

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН

На правах рукопису

ГУДИМА ВОЛОДИМИРА ЮРІЇВНА

УДК 636.52.58/636.597.034:577.161.2

**БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТКАНИН І ЯЄЦЬ КУРЕЙ-НЕСУЧОК
ЗА РІЗНОГО РОЗМІРУ ЧАСТИНОК ВАПНЯКУ
ТА ВМІСТУ ВІТАМІНУ D₃ У РАЦІОНІ**

03.00.04 — біохімія

Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата сільськогосподарських наук

Науковий керівник

Вудмаска Ігор Васильович

доктор сільськогосподарських наук, професор

Львів — 2017

ЗМІСТ	Стор.
ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	10
1.1. Засвоєння вітаміну D	10
1.2. Метаболізм вітаміну D	11
1.3. Біологічна дія вітаміну D в організмі тварин	13
1.4. Засвоєння Кальцію і Фосфору	17
1.5. Метаболізм Кальцію і Фосфору	20
1.6. Функції Кальцію і Фосфору в організмі тварин	21
1.7. Особливості метаболізму Кальцію, Фосфору та вітаміну D ₃ в організмі птиці	23
1.8. Формування яєчної шкаралупи	25
1.9. Вплив розміру частинок джерела Кальцію на обмін речовин та продуктивність птиці	28
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	30
2.1. Загальна схема досліджень	30
2.2. Методи дослідження	33
РОЗДІЛ 3 ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ	47
3.1. Вплив розміру частинок вапняку в раціоні курей-несучок на біохімічні показники крові обмін речовин та яєчну продуктивність	47
3.1.1. Метаболічний профіль крові курей-несучок	47

3.1.2.	Хімічний склад та морфометричні параметри яєць	57
3.2.	Вплив введення до раціону курей несучок 1250, 2500, 3750 МО/кг вітаміну D ₃ на обмін речовин та склад яєць	79
3.2.1.	Метаболічний профіль крові курей-несучок	79
3.2.2.	Гематологічні показники курей-несучок	81
3.2.3.	Жирнокислотний склад органів і тканин курей несучок	83
3.2.4.	Антиоксидантний статус органів і тканин курей несучок	86
3.2.5.	Хімічний склад та морфометричні параметри яєць	89
3.3.	Вплив введення до раціону курей несучок 2500, 5000 та 10000 МО/ кг вітаміну D ₃ на обмін речовин та склад яєць	93
3.3.1.	Метаболічний профіль крові курей-несучок	93
3.3.2.	Гематологічні показники курей-несучок	95
3.3.3.	Хімічний склад та морфометричні параметри яєць	98
3.4	Виробнича перевірка	108
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ		110
ВИСНОВКИ		125
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ		128
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ		129
ДОДАТКИ		160

ВСТУП

Актуальність теми. Повноцінне функціонування організму, досягнення високої продуктивності та якості яєць курей-несучок вимагає детального нормування вмісту Кальцію та вітаміну D у їх раціоні. Незважаючи на відносно глибоке вивчення цих аспектів, у світі надалі ведуться дослідження обміну, нормування, форми та способу згодовування вітаміну D та Кальцію у раціоні курей [59; 89; 166; 171; 211; 217; 231].

Існує декілька способів покращення забезпечення несучок Кальцієм: підбір розміру частинок джерела Кальцію, зміна вмісту Кальцію у раціоні, регуляція тривалості світлового дня, кожен з яких інтенсивно вивчається [122; 148; 159; 200; 217; 238; 243]. Основні джерела Кальцію для птиці — вапняк, черепашка та крейда. Виробничники, як правило, нормують їх за вагою, не враховуючи розміру частинок. Проте, птиця краще засвоює Кальцій, який знаходиться у складі крупних кормових частинок. Це зумовлено швидким проходження дрібних частинок через травний канал і, відповідно, неповним засвоєнням наявного у них Кальцію. Крупна фракція вапняку поступово подрібнюється у м'язовому шлунку, його надходження у кишечник розтягується у часі. Крім того, крупні частинки вапняку діють як абразивний матеріал у м'язовому шлунку і сприяють кращому перетравленню корму [148; 208].

Птиця споживає корм вдень, а кальцифікація шкаралупи яйця формується, переважно, у нічний час [188; 230; 238]. Оскільки, дрібна фракція вапняку швидко засвоюється, під час формування яйця створюється дефіцит Кальцію, внаслідок чого відбувається його вимивання з кісткової тканини. Крупна фракція вапняку продовжує надходити у кишечник вночі, тому синтез яєчної шкаралупи забезпечується ефективніше [122; 178; 238].

Загальновідомо, що вітамін D, бере участь у регулюванні кальцієво-фосфорного обміну. Особливістю вітаміну D є гормоноподібний механізм

регуляції метаболічних процесів. На відміну від інших вітамінів, дія вітаміну D здійснюється за характерними для стероїдних гормонів шляхами. Подібно до стероїдних гормонів, для $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у клітинах тварин і людини наявні мембранні та ядерні рецептори, через які вітамін D виконує свої регуляторні функції [104; 191; 267]. Тому, згідно сучасних уявлень, метаболічна дія вітаміну D значно ширша. Згідно результатів, отриманих на лабораторних тваринах, крім кальцієвого обміну, вітамін D задіяний у регуляції імунної функції та проліферації і диференціації клітин [85, 91, 111-1113, 133, 152, 165, 190, 203, 218, 219, 252, 255, 263, 275]. Інформації про подібну дію вітаміну D у сільськогосподарських тварин, в тому числі й птиці, ми не знайшли.

Вітамін D відсутній у зернових кормах та шроті, які становлять основу комбікормів. Теоретично він може синтезуватись шкірою, проте для птиці це утруднено внаслідок утримання у закритих приміщеннях. Крім того, ультрафіолетове опромінення погано проникає через пір'яний покрив, тому навіть за наявності сонячного світла чи штучного ультрафіолетового опромінення птиця майже не синтезує вітамін D. Слід враховувати, що на відміну від ссавців, птиця не засвоює вітамін D_2 , тому до її раціону додають виключно вітамін D_3 .

Вітамін D_3 додають до комбікормів для птиці у формі холекальциферолу або 25-гідроксикальциферолу в кількості 2–3 тис. МО/кг, чого з надлишком вистачає для підтримання обміну Кальцію [49; 70]. Разом з тим, відомо, що на відміну від 25-гідроксикальциферолу, токсичність холекальциферолу для птиці дуже низька. Зокрема, кури витримують дозу 100 тис. МО/кг вітаміну D_3 без будь-яких негативних наслідків для обміну речовин і продуктивності [211, 271]. Отже, науковий інтерес становить вивчення дії підвищеного вмісту холекальциферолу в раціоні курей на обмін речовин і продуктивність.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження при виконанні дисертаційної роботи здійснено згідно з планом науково-дослідних робіт лабораторії фізіології, біохімії та живлення птиці Інституту біології тварин НААН протягом 2008-2014 років за завданнями «Розробити способи підвищення ефективності використання поживних речовин корму, продуктивності, репродуктивної здатності та імунобіологічної реактивності птиці» (№ ДР 0106U003039) шифр 28.01/016-03, та "Вивчити вікові та органо-тканинні особливості мінерального обміну, ліпідного та жирнокислотного складу субклітинних фракцій та активності травних ферментів курей-несучок" (ДР 0111U006145) шифр 31/8.02.02Ф01.

Автором дисертаційної роботи здійснено дослідження впливу згодовування курям-несучкам Кальцію у складі вапняку різних фракцій та різних кількостей вітаміну D₃ на метаболічний статус організму та яєчну продуктивність.

Мета і завдання дослідження. Встановити оптимальний розмір частинок вапняку в раціоні курей–несучок для покращення яєчної продуктивності. З'ясувати вплив різних кількостей згодовуваного курям–несучкам вітаміну D₃ на імунну функцію та інші ланки обміну речовин.

Для реалізації постановленої мети визначено такі основні завдання:

- Дослідити вплив різного розміру частинок вапняку в раціоні курей–несучок на метаболічний профіль крові, хімічний склад та морфометричні параметри яєць;
- Проаналізувати вікові зміни біохімічних показників крові та складу яєць курей–несучок за згодовування їм різних фракцій вапняку;
- Вивчити вплив різного вмісту вітаміну D₃ в раціоні курей–несучок на метаболічний профіль крові, хімічний склад та морфометричні параметри яєць;
- З'ясувати вплив різних доз вітаміну D₃ на природну резистентність курей–несучок.

Об'єкт досліджень : метаболічні процеси в організмі, біологічну цінність та якість яєць курей за згодовування вапняку й вітаміну D₃.

Предмет досліджень: біохімічні та імунологічні показники крові курей, хімічний склад та морфометричні параметри яєць.

Методи дослідження: біохімічні, імунологічні, зоотехнічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше доведено коригувальний вплив розміру частинок згодовуваного курям–несучкам вапняку на показники ліпідного обміну. Показано, що в разі використання крупнішої фракції у плазмі крові зростає вміст триацилгліцеролів і холестеролу, а в сироватці крові — концентрація 25–ОН вітаміну D₃ та іонізованого кальцію.

Встановлено стабілізуючий вплив вапняку більш крупної фракції за використання його у раціоні на вікові зміни біохімічних показників і складу яєць курей–несучок.

Констатовано стимулювальний вплив високого рівня вітаміну D₃ у раціоні для підвищення неспецифічної резистентності курей–несучок. Зі збільшення вмісту вітаміну D₃ в раціоні курей несучок у їх крові зростає число еритроцитів і зменшується кількість лімфоцитів. Виявлено вплив вітаміну D₃ на антиоксидантний стан курей.

Показано, що зі збільшенням вмісту холекальциферолу в раціоні курей з 1250 до 3750 МО/кг знижується концентрація продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові та тканинах, тоді як подальше збільшення вмісту в раціоні вітаміну D₃ до 5 і 10 тис. МО/кг на антиоксидантний статус не впливає.

Практичне значення одержаних результатів. Доведено, що використання в раціоні курей–несучок як джерела Кальцію вапняку фракції 2–3 мм збільшує масу яєць і міцність їх шкаралупи. Підвищення вмісту вітаміну D₃ в раціоні курей–несучок до 3750 МО/кг сприяє збільшенню маси

яйця та підвищенню міцності шкаралупи. Застосування вказаної дози вітаміну D₃ стимулює фагоцитарну активність крові. Результати досліджень пройшли виробничу перевірку.

Особистий внесок здобувача. Автор особисто підготувала обґрунтування теми дисертаційної роботи, провела патентний пошук, підбрала й опрацювала літературу, освоїла необхідні методики дослідження. Виконала експериментальну частину роботи на базі лабораторії фізіології, біохімії та живлення птиці Інституту біології тварин НААН, здійснила математичну та статистичну обробку отриманих даних.

Планування досліджень, аналіз та інтерпретацію отриманих даних, формування висновків і пропозицій здійснено спільно з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень та основні положення дисертаційної роботи обговорювались і були схвалені на щорічних звітах Інституту біології тварин НААН (2008-2015), а також доповідались на міжнародних науково-практичних конференціях: «Актуальні проблеми біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2009); «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» присвяченої 50-річчю з дня заснування Інституту біології тварин НААН України та 110-річниці з дня народження його засновника, професора С. З. Гжицького (Львів, 2010); «Актуальні проблеми біології, тваринництва та ветеринарної медицини» присвячена 80-річчю доктора біологічних наук, професора В. Г. Яновича (Львів, 2010); 10-го Український біохімічний з'їзд на базі Одеського національного університету ім. І. І. Мечнікова (Одеса, 2010); XII Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» присвяченої 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Шавкуна Василя Юхимовича (Львів, 2013); XIII Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених «Молоді

вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2014); Міжнародна науково-практична конференція «Інноваційність розвитку сучасного аграрного виробництва» присвячена 230-річчя від часу відкриття кафедри ветеринарії у Львівському університеті (Львів, 2014); Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2014); VI Международная научная конференция посвященная 55-летию Всероссийского научно-исследовательского института физиологии, биохимии и питания животных «Актуальные проблемы биологии в животноводстве» (Боровск, 2015); VI Науково-практичної конференція присвячена 55-річчю Інституту біології тварин «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини». Інститут біології тварин НААН (Львів, 2015).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць у фахових виданнях (у журналах – 10, у збірниках – 1, у бюлетенях – 2, у вісниках – 2), з них 9 – статті у виданнях, що входять до наукометричних баз даних; в яких викладено основний зміст дисертаційної роботи.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Засвоєння вітаміну D

Термін вітамін D об'єднує групу близьких за будовою сполук, які є похідними стероїдів і характеризуються антирахітичною дією [6, 126]. Згідно з міжнародною номенклатурою всі представники вітаміну D відносяться до секостероїдів, які мають загальну кільцеву триєнову структуру з трьома подвійними зв'язками в молекулі між атомами вуглецю у положеннях 5,6, 7,8 і 10,19. Особливістю структури їх молекули порівняно з іншими стероїдами є розімкненість кільця В між С-9 і С-10 [192]. З усіх вітамінів групи D лише D₂ і D₃ знайшли практичне застосування [154, 251].

Вітамін D надходить в організм тварин двома шляхами: з кормом та внаслідок синтезу в шкірі за дії ультрафіолетового випромінювання.

Найявний у кормі вітамін D всмоктується у тонкому кишечнику і надходить у лімфу, а далі з кров'ю портальної вени потрапляє у печінку [5, 50, 78, 100, 135, 136, 221]. При відсутності жовчі вітамін D не всмоктується [135, 136, 173, 191, 192, 221, 236, 267]. Основним шляхом метаболізму вітаміну D у печінці є його перетворення в 25ОН D₃ шляхом гідроксилювання, після чого він виділяється в кров і транспортується в різні тканини, де відбувається подальший метаболізм. Частина вітаміну D депонується в жировій тканині і шкірі тварин у вигляді ефірів з жирними кислотами [78, 81, 124, 135, 136, 173, 177], завдяки чому забезпечується його поступове використання.

Вітамін D і його метаболіти транспортуються у крові в зв'язаному з вітаміном D-зв'язуючим білком (ДЗБ) стані [124, 135, 136, 234, 254]. Спорідненість 25(ОН)D₃ до D-зв'язуючого білка (ДЗБ) у сто разів більша, ніж спорідненість вітаміну D₃ [135, 136, 155].

Утворення вітаміну D у шкірі тварин при дії сонячного опромінення відіграє важливу роль у забезпеченні їх потреби в цьому вітаміні [124, 135, 136, 169, 167, 171, 214, 221, 247, 271]. Синтез вітаміну D в організмі тварин включає 4 основні стадії: 1) біосинтез холестерину і сквалену в печінці, 2) перетворення сквалену в 7-дегідрохолестерин, який є провітаміном D (цей процес найбільш інтенсивно проходить у слизовій кишечника і особливо в шкірі, яка характеризується високим вмістом 7-дегідрохолестерину), 3) трансформація 7-дегідрохолестерину у вітамін D у шкірі при дії УФ-променів, 4) термічна ізомерація провітаміну у вітамін D в шкірі [132].

1.2. Метаболізм вітаміну D

Тривалий час біологічну роль вітаміну D в організмі людини і тварин пов'язували з його безпосередньою дією. Пізніше було встановлено, що після введення щурам міченого радіоактивним вуглецем вітаміну D₃ лише 30% радіоактивності в їх тканинах виявлялося у вітаміні D₃, а решта радіоактивності розподілилося між іншими формами вітаміну. На основі цих даних виникла концепція про регуляторний вплив на метаболізм не самого вітаміну D₃, а його активних метаболітів [84].

У плазмі крові циркулює активний метаболіт вітаміну D₃ — 25-гідроксикальциферол (25OHD₃) [135, 189, 234]. Встановлено, що антирахітична активність гідроксильованого метаболіту вітаміну D₃ у 1,5 рази вища, ніж вітаміну D₃ [83, 135, 268].

Вітамін D гідроксильується у печінці. Цей процес каталізується D₃-25-гідроксилазою, яка виявлена в мікосомальній фракції печінки різних видів тварин [135, 136, 203, 222]. У ссавців гідроксильованню в печінці підлягає також вітамін D₂ [177, 221]. D₃-25-гідроксилаза виявлена також у позапечінкових органах — кишечнику і нирках [221].

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ синтезується в нирках шляхом гідроксилування 25OH D_3 при C-1, яке каталізується 25-гідроксивітамін- D_3 -1 α -гідроксилазою (1-ОН-азою). Синтез $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ відбувається, переважно, у мітохондріях нирок [177], проте 25-гідроксивітамін- D_3 -1 α -гідроксилазна активність виявлена й у інших органах і тканинах [202, 203].

Синтез $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ значною мірою залежить від рівня Ca і P в крові тварин і знаходиться під гормональним контролем. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ виділяється в кров і транспортується в інші органи і тканини, де він проявляє регуляторну дію після зв'язування з рецептором [127, 132, 173, 236, 254]. Тому $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ відносять до гормонів, дія яких також опосередкована зв'язуванням з рецепторами [97]. У фізіологічних умовах лише частина рецепторів у клітині зв'язана з $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, а решта їх знаходиться у вільному стані [220, 236].

Кількість рецепторів у клітинах органів-мішеней знаходиться під гормональним контролем. Зокрема, показаний інгібуючий вплив глюкокортикоїдів на синтез рецепторів у епітелії кишок мишей, при нефроектомії кількість їх підвищується [127, 132]. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ бере участь у регуляції кількості власних рецепторів, про що свідчить збільшення їх кількості в клітинах різних органів-мішеней (слизової тонких кишок, кісток) в умовах культивування при додаванні $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ до середовища [177]. Така здатність регулювати кількість рецепторів у клітині властива багатьом гормонам. В її основі лежить вплив гормону на інтенсивність синтезу і розпаду рецепторного білка.

У нирках 25OHD_3 підлягає також гідроксилуванню при дії 25-гідрокси-24-гідролази з утворенням $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Синтез $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у нирках каталізується 24-ОН-азою, яка, так як і 1-ОН-аза, локалізується в мітохондріях [94].

Вітамін D важливий у харчуванні людини, проте у більшості продуктів його кількість недостатня для повного забезпечення потреби. Отже, важливим є підвищення вмісту вітаміну D у продуктах харчування, у тому

числі й у яйці, що є об'єктом багатьох сучасних досліджень [105, 109, 176, 187, 256].

1.3. Біологічна дія вітаміну D в організмі тварин

У регуляції метаболічних процесів беруть участь проміжні продукти обміну вітаміну D [79, 86, 94, 124, 135, 136]. Біологічною активністю вітаміну D (кальциферолу) в організмі тварин володіють декілька хімічних сполук, з яких найважливіші: ергокальциферол (вітамін D₂) і холекальциферол (вітамін D₃). Проте, у птахів активність ергокальциферолу дуже низька, тому вважається, що він не проявляє в їх організмі вітамінної дії.

Активні метаболіти вітаміну D стимулюють синтез кальційзв'язуючого білка, який забезпечує всмоктування і внутрішньоклітинний транспорт Ca²⁺ в тонкому кишечнику, нирках, плаценті, кістковій тканині [96]. Метаболічно-активна форма вітаміну D — 1,25(OH)₂D₃ зв'язується з специфічними клітинними рецепторами і регулює експресію генів, які кодують синтез білків, що забезпечують гомеостаз Ca і P [104, 127, 164, 197, 222, 229].

При дефіциті вітаміну D в дорослих тварин спостерігається остеомалаяція, яка характеризується порушенням мінералізації кісткової тканини [99, 100, 264]. Разом з тим, остеомалаяція у тварин виникає при дефіциті в раціоні Фосфору, іноді при дефіциті Кальцію, а також при зменшенні відношення Ca:P. Основний симптом патології — деформація кісток внаслідок їх демінералізації [135, 136, 234]. У крові тварин при цьому різко знижується концентрація Ca і P [189]. Вітамін D регулює реабсорбцію Ca в нирках [135, 137].

Вплив вітаміну D₃ і його метаболітів на процеси мінералізації і резорбції у кістковій тканині, так само як і на всмоктування Ca і P в кишках, здійснюється шляхом взаємодії з паратиреоїдним гормоном і кальцитоніном [99, 100, 166]. Перший з вказаних гормонів стимулює резорбцію кісток

остеокластами, а останній — проявляє протилежну дію, забезпечуючи відкладання Кальцію [135, 180, 181]. Порушення мінералізації кісткової тканини у тварин при дефіциті вітаміну D характеризується підвищенням активності лужної фосфатази у плазмі крові [189, 221]. Крім прямої дії на кісткову тканину вітамін D і його метаболіти впливають на синтез ПТГ і КТ [135, 136, 153, 184].

Вітамін D регулює обмін білків. Дефіцит вітаміну D в раціоні тварин супроводжується підвищенням вмісту органічних компонентів у кістковій тканині: колагену і неколагенових білків, протеогліканів і глікопротеїнів [99, 100, 129]. При дії $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у кістковій тканині збільшується вміст неколагенових білків, що обумовлено його стимулюючим впливом на синтез цих білків в остеобластах.

Виявлено стимулюючий дозозалежний вплив вітаміну D_3 на синтез білків у скелетних м'язах *in vitro* [117, 135, 136]. За дії вітаміну D_3 змінюється склад вільних амінокислот плазми крові та співвідношення α - і β -глобулінів [135, 136].

Вітамін D і $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, виявляє вплив на обмін ліпідів у організмі тварин. Зокрема, він стимулює синтез ліпідів з $[6\text{-}^{14}\text{C}]$ глюкози, $[1\text{-}^{14}\text{C}]$ оцтової і $[1\text{-}^{14}\text{C}]$ пальмітинової кислот [33, 37]. При цьому в плазмі крові підвищується вміст загальних ліпідів, фосфоліпідів і триацилгліцеролів та зменшується вміст ефірів холестеролу, зростає частка поліненасичених жирних кислот — лінолевої, арахідонової, докозапентаєнової і докозагексаєнової [37]. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ стимулює синтез фосфоліпідів у кістковій тканині. При додаванні $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ до середовища при культивуванні остеобластів трабекулярної кістки підвищується включення ^3H -серину в фосфатидилсерин і включення ^3H -інозиту в фосфатидилінозит [135, 136], тоді як $25\text{OH}\text{D}_3$ і $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ такої дії не проявляють. Крім цього, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ активує фосфоінозитидний цикл, внаслідок чого стимулюється виділення Ca^{2+} й активується фосфатидилсеринзалежна

протеїнкіназа С, яка каталізує фосфорилування специфічних клітинних білків, що приймають участь у проліферації і диференціації клітин [135, 136].

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ підвищує рівень глюкози в крові тварин, регулюючи синтез інсуліну та толерантність до нього клітин [189].

Дефіцит вітаміну D веде до порушення метаболізму Ca у скелетних м'язах [117, 153]. У міокарді тварин знижується вміст Ca, інтенсивність дихання і синтез АТР.

Вітамін D проявляє антианемічну дію, стимулюючи проліферацію еритроцитів [183, 201, 242].

Вплив вітаміну D на імунну функцію. Протягом останнього десятиріччя уявлення про роль вітаміну D зазнали суттєвих змін, пов'язаних з виявленням рецептора вітаміну D та активуючого його ензиму 1- α -гідроксилази в багатьох типах клітин [94, 104, 153], у тому числі й у клітинах імунної системи: лімфоцитах, моноцитах антигенпрезентуючих клітинах [218]. Згідно сучасних уявлень, вітамін D стимулює імунну відповідь, тобто спектр його дії ширший, ніж вважалося раніше [85, 104, 151, 152, 165, 190, 218].

Вітамін D стимулює неспецифічний імунітет. Він впливає на моноцити і макрофаги посилюючи їх хемотаксис та фагоцитарну активність [91, 225]. Зв'язування антигену з толл-подібним рецептором стимулює експресію рецептора вітаміну D і 1- α -гідроксилази, подібну дію на експресію цих генів виявляють і γ -інтерферон та інтерлейкін-4 [128, 182, 223, 263]. Разом з тим, високі концентрації кальцитріолу пригнічують чутливість толл-подібних рецепторів моноцитів [91].

Комплекс кальцитріолу, рецептора вітаміну D та ретіноїд-Х рецептора активує транскрипцію антимікробних пептидів, зокрема дефензину $\beta 2$ та кателіцидину [182, 259, 263]. Значну кількість кателіцидину продукують нейтрофіли, які експресують рецептор вітаміну D, але не синтезують 1- α -гідроксилази [151]. Механізм ініціювання синтезу кателіцидину у них

недостатньо вивчений, очевидно цей процес стимулюється кальцитріолом крові або ж антигенні чинники запускають його експресію іншими сигнальними шляхами [218].

Крім безпосереднього стимулювання фагоцитарної активності кальцитріол виявляє модуляторний ефект на антигенпрезентуючі клітини [218]. Зокрема, показано, що кальцитріол впливає на функцію і морфологію дендритних клітин, діючи на них як толероген і пригнічуючи їх дозрівання [91, 137, 190, 209, 255]. У досліджах на лабораторних тваринах з блокуванням генів рецептора вітаміну D та 1- α -гідроксилази встановлено значне зростання кількості зрілих дендритних клітин та посилення їх хемотаксису [133, 147].

Рецептор вітаміну D та 1- α -гідроксилаза наявні у T- і B-лімфоцитах [218, 275]. Їх кількість незначна у неактивному стані, проте після активування лімфоцитів вона різко зростає, що призводить змін експресії більш ніж 500 генів, які регулюють диференціацію та проліферацію цих клітин [118, 258].

Вітамін D пригнічує проліферацію і диференціацію T-хелперів і модулює продукування ними цитокінів [101, 158, 202, 219]. Зокрема, кальцитріол інгібує секрецію T-хелперами прозапальних цитокінів: інтерлейкіну-2, γ -інтерферону, фактору некрозу пухлин α , інтерлейкіну-9, інтерлейкіну-22 [112, 202, 252] та посилює секрецію протизапальних цитокінів: інтерлейкіну-3, інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-5, інтерлейкіну-10, інтерлейкіну-17 [103, 158, 210].

Пригнічення під впливом кальцитріолу проліферації B-лімфоцитів переважно пов'язують з його дією на T-хелпери [218]. Разом з тим, встановлено пряму дію кальцитріолу на B-лімфоцити, яка проявляється в зменшенні утворення клітин пам'яті та плазматичних клітин, а також у посиленні апоптозу імуноглобулін-продукуючих B-лімфоцитів [91, 119].

Вітамін D зменшує ризик виникнення автоімунних захворювань, проте механізми цієї дії встановлені недостатньо та потребують подальшого вивчення [82, 102, 113, 219, 252].

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ здійснює регуляторний вплив на процеси клітинної проліферації і диференціації свідчить ряд даних, отриманих при дослідженні впливу цього найбільш активного метаболіту вітаміну D, який характеризується гормональними властивостями, на ріст і диференціацію клітин різного типу, особливо пухлинних клітин. Інгібуюча дія $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ на ріст пухлинних клітин реалізується на генному рівні через специфічні рецептори [135, 136].

1.4. Засвоєння Кальцію і Фосфору

У кормах Кальцій знаходиться у вигляді мінеральних солей (фосфатів, карбонатів, сульфатів), а також у вигляді комплексів білками, ліпідами й органічними кислотами. При дії ферментів шлункового соку і соляної кислоти Кальцій звільняється з комплексів з органічними і мінеральними компонентами корму, а його солі в кислому середовищі шлунка дисоціюють і Ca в іонізованому вигляді або у вигляді комплексів з деякими розчинними хелатами (цитрат, оксалат, пептиди) у складі хімусу надходять у дванадцятипалу кишку. Засвоєння Кальцію тваринами значною мірою залежить від їх фізіологічного стану: воно підвищується в період інтенсивного росту, в період вагітності і лактації, в птиці — в період яйцекладки.

Всмоктування мінеральних елементів, у тому числі Кальцію, з хімусу включає 3 основні стадії: транспорт через апікальну мембрану щітчастої облямівки, транспорт через цитоплазму від апікальної до базальної мембрани, транспорт через базальну мембрану і поступлення в кров [135, 136].

Транспорт Са через базальну мембрану в кров, внаслідок низького електрохімічного градієнту концентрації, відбувається за допомогою механізму активного транспорту, за рахунок енергії, що звільняється в процесі розщеплення АТР Са²⁺-АТР-азою [207]. Крім того, транспорт Са через базолатеральну мембрану відбувається шляхом Na⁺/Са²⁺ обмінного транспорту, внаслідок якого з ентероциту виходить один іон Са²⁺ і входить два іони Na⁺ [138].

Транспорт Са через зовнішню мембрану в середину органел забезпечують наявні в них кальційзв'язуючі білки [207]. СаЗБ локалізується також у цитоплазмі і бере участь у переносі Са²⁺ як до мітохондрій і інших органел, так і від апікальної мембрани клітини до базальної шляхом полегшеної дифузії. Основна функція СаЗБ — транспортна, вона стимулюється вітаміном D і його активнішими метаболітами.

Крім СаЗБ у внутрішньоклітинному транспорті Са²⁺ в ентероцитах, беруть участь також інші білки, зокрема специфічний білок кальмодулін (КМ), який транспортує Са²⁺ через базолатеральну мембрану за участю Са²⁺-АТР-ази [131].

У регуляції засвоєння Кальцію тваринами, в залежності від їх фізіологічного стану і його вмісту в раціоні, важливу роль відіграє 1,25(ОН)₂D₃. При підвищенні потреби тварин у Кальції і Фосфорі в нирках підвищується активність 1α-гідроксилази [186], що призводить до збільшення синтезу 1,25(ОН)₂D₃. Коли потреба тварин у цих мінеральних елементах зменшується, з нирках підвищується синтез 24,25(ОН)₂D₃, активність якого набагато вища внаслідок низької спорідненості його з рецептором в цитоплазмі клітин кишечного епітелію [97]. Це призводить до зменшення синтезу СаЗБ, який забезпечує всмоктування і внутрішньоклітинний транспорт Са. Синтез СаЗБ стимулюється 1,25(ОН)₂D₃ шляхом індукції синтезу специфічних мРНК у геномі клітин кишкового епітелію.

Крім вітаміну D в регуляції всмоктування Ca в кишках бере участь ПТГ [99, 100, 172, 216, 240, 250, 269]. Роль ПТГ в регуляції всмоктування Ca в кишках полягає в стимуляції синтезу $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, у нирках. На всмоктування Ca в кишках впливає також кальцитонін [42, 43, 47, 95, 107, 114]. Всмоктування Ca в кишках значно посилює соматотропін [97, 99, 100].

Фосфор — важливий нутрієнт, який задіяний у багатьох процесах і функціях організму: формуванні кісткової тканини, енергетичному метаболізмі, формуванні яєчної шкаралупи. Проте, у рослинних кормах Фосфор наявний, переважно, у складі фітатів, що значно знижує ефективність його засвоєння моногастричними тваринами, у тому числі й птицею [141, 145, 194, 257, 273, 276].

Центральне положення в регуляції всмоктування Фосфору займає вітамін D [156, 245, 246]. При дефіциті вітаміну D у тварин спостерігається зниження рівня Фосфору в плазмі крові і від'ємний баланс P. Про стимулюючий вплив вітаміну D на всмоктування P у тонкому кишечнику свідчать дані, одержані в досліджах на багатьох видах ссавців і птиці з застосуванням різних методів дослідження *in vivo* та *in vitro*. Проте, хоча $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ одночасно стимулює транспорт Ca і P через мембрани ентероцитів, транспорт їх забезпечують різні механізми. Про це свідчать, насамперед, відмінності в локалізації транспорту Ca і P у травному каналі: максимальне всмоктування Ca виявлене в 12-палій кишці а P — у порожній кишці. На відміну від Кальцію Фосфор не всмоктується у прямій кишці. Крім того, стимуляція всмоктування P у кишках підвищується при збільшенні концентрації Na^+ [120], тоді як всмоктування Ca пригнічується при високій концентрації Na^+ . Ці дані свідчать про те, що дія вітаміну D на всмоктування Ca і P в тонких кишках здійснюється незалежними механізмами. Загалом, молекулярні механізми стимулюючого впливу вітаміну D на всмоктування P не з'ясовані, а транспортні білки, подібні до CaЗБ, не виявлені.

Аденілатциклазна система, зокрема цАМР, у кишечному епітелії не відіграє суттєвої ролі в регуляції всмоктування Р, тоді як проксимальних ниркових каналцях він забезпечує реалізацію дії паратиреоїдного гормону і кальцитоніну [216].

Дія вітаміну D на всмоктування Р в тонких кишках реалізується двома шляхами:

1) підвищенням Na-залежного активного транспорту Р через мембрани [135, 136].

2) активацією лужної фосфатази, яка підвищує доступність Р для всмоктування з різних органічних субстратів [138, 236]. Лужна фосфатаза на поверхні кишечного епітелію характеризується широким спектром гідролітичної дії по відношенню до різних моноєфірів фосфорної кислоти, які не здатні всмоктуватися через слизову кишок. Після їх розщеплення лужною фосфатазою концентрація іонів Фосфору і місцях всмоктування, а саме, на мембранах щіткової облямівки, підвищується, що полегшує його транспорт у клітину.

1.5. Метаболізм Кальцію і Фосфору

Метаболізм Кальцію і Фосфору регулюється паратиреоїдним гормоном (ПТГ) [99, 100, 172, 240, 250, 269], кальцитоніном [95, 107, 114] і дигідрохолекальциферолом ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) [79, 189, 192].

Гомеостаз Кальцію в крові включає у себе підтримання фізіологічного рівня його концентрації і контроль депонування та вивільнення Кальцію. Обмін Кальцію головним чином контролюється інтегрованою регуляторною системою, яка складається з двох гормонів: паратиреоїдного гормону, $1,25(\text{OH})_2$ вітаміну D_3 , їх рецепторів, іонізованого Кальцію сироватки крові та кальцій-чутливого рецептора [108, 164, 207, 216]. Зниження концентрації Кальцію у крові інактивує кальцій-чутливий рецептор парашитоподібних

залоз, що стимулює секрецію паратиреоїдного гормону, який діє на свій рецептор у нирках, збільшує реабсорбцію у нирках Кальцію, а у кістковій тканині зростає його резорбція. Зростання секреції паратиреоїдного гормону посилює синтез $1,25(\text{OH})_2$ вітаміну D_3 , який зв'язується з своїм рецептором в кишечнику і посилює абсорбцію Кальцію з хімусу. $1,25(\text{OH})_2$ вітаміну D_3 , свою чергу, пригнічує секрецію паратиреоїдного гормону паращитоподібних залоз та посилює реабсорбцію Кальцію кістковою тканиною.

Резервний Кальцій депонується в порожнині трубчастих кісток у вигляді модулярної кісткової речовини. У формуванні модулярної речовини бере участь також Кальцій, який звільняється при резорбції кісткової тканини [139].

Гомеостаз Фосфору відрізняється від гомеостазу Кальцію. На даний час не знайдено рецепторів, чутливих до концентрації Фосфору в крові [207]. Внаслідок цього концентрація Фосфору в крові коливається у значно ширших межах ніж концентрація Кальцію. Разом з тим, виділення Фосфору нирками відбувається так само, як і виділення Кальцію [98].

1.6. Функції Кальцію і Фосфору в організмі тварин

Приблизно 99% Кальцію і 80% Фосфору міститься у кістковій тканині, решта його знаходиться в м'яких тканинах і рідинах [3, 24, 207]. Кістки служать депо Кальцію і Фосфору в організмі тварин, звідки він мобілізується при недостатньому забезпеченні їх потреби у цих мінеральних елементах. Крім формування кісткової тканини, Кальцій відіграє важливу роль у ряді фізіологічних функцій. Зокрема, він бере участь у регуляції осмотичного тиску і кислотно-лужної рівноваги в тканинах і рідинах тіла тварин, забезпеченні функції нервової системи і нервів, зсіданні крові, в активації трипсину і аденозинтрифосфатази [7, 94, 99, 100, 228].

Вміст Кальцію в плазмі крові тварин більшості видів становить 9-11 мг/100 мл. Виняток становлять кури-несучки, вміст Кальцію в плазмі

крові яких становить 20-30 мг/100 мл. У клітинах крові Кальцій міститься в мінорній кількості.

При низькій концентрації Кальцію в крові, що має місце при недостатньому його вмісті в раціоні тварин або посиленому виділенні з молоком чи яйцями, посилюється секреція ПТГ за механізмом зворотного зв'язку, внаслідок чого концентрація Кальцію підвищується. Це обумовлено підвищенням мобілізації Кальцію з кісток, збільшенням його тубулярної реабсорбції і посиленню синтезу $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у нирках. Останній, стимулює абсорбцію Кальцію і Фосфору в кишках, завдяки чому поповнюється їх вміст у кістках і забезпечується стабільний рівень у плазмі крові. Кальцитонін — фізіологічним антагоністом ПТГ і $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ він пригнічує реабсорбцію іонів Кальцію в нирках при високому його рівні в плазмі крові, а також відкладання Кальцію в кістках.

Функція м'язів тісно пов'язана з метаболізмом Са. Процес скорочення м'язів відбувається за участю ряду специфічних Са-зв'язуючих м'язових білків, насамперед актину, міозину, тропоніну [117].

Фосфор займає центральне положення в енергетичному обміні: він входить до складу АДР, АТР і креатинфосфату. Крім того він бере участь у метаболізмі вуглеводів, білків і ліпідів шляхом їх Фосфорилування. Фосфор є компонентом фосфоліпідів, які є структурною основою клітинних мембран, а також входять до складу ДНК і РНК, котрі є важливими компонентами білоксинтезуючої системи.

Концентрація Фосфору в плазмі крові тварин значною мірою регулюється незалежно від концентрації Кальцію. Дефіцит фосфатів призводить до посилення синтезу $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у нирках. Ще важливішу роль у регуляції концентрації фосфату в крові відіграє підвищення його реабсорбції в нирках внаслідок підвищення продукції ПТГ, який діє разом з $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Отже, зміни концентрації фосфату в плазмі крові відбуваються за участю механізмів, які регулюють концентрації Кальцію. Низький рівень

кожного з цих мінеральних елементів викликає підвищення продукції ПТГ і $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, і як наслідок — збільшення їх абсорбції в кишках.

Регуляторна дія вітаміну D на гомеостаз P в організмі тварин обумовлена посиленням його всмоктування в тонких кишках і реабсорбції в ниркових каналцях, регуляцією резорбції у кістках. У свою чергу, рівень P у плазмі крові регулює перетворення вітаміну D в його гормонально активну форму — $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [189].

1.7. Особливості метаболізму Кальцію, Фосфору та вітаміну D₃ в організмі птиці

Організм птиці майже не метаболізує ергокальциферол (D_2) у біологічно активні форми, тому вітамінними властивостями для неї володіють лише похідні холекальциферолу (D_3) [164]. У птахів вітамін D_3 зв'язується з ДЗБ значно краще, ніж вітамін D_2 , тоді як у ссавців такі різниці відсутні. З цими відмінностями в спорідненості ДЗБ до вітамінів D_3 і D_2 пов'язують незначну біологічну дію останнього в організмі птиці.

Важливе значення для обміну речовин має оптимальне забезпечення потреби в Ca і P [44, 45, 46, 47, 48, 58, 60, 115, 125, 193, 235, 273]. При недостатньому вмісті у раціоні птиці Ca і P, зростає потреба у вітаміні D [87, 89, 167]. При дефіциті вітаміну D у птиці спостерігається зниження активності B- і T-лімфоцитів [78, 101].

Забезпечення організму птиці вітаміном D_3 у період інтенсивної яйцекладки має важливе значення у регуляції кальцієво-фосфорного метаболізму, що є невід'ємною умовою формування шкаралупи яєць та тканин ембріонів [29, 123, 146, 155, 159, 178]. Встановлено, що в репродуктивний період концентрація Кальцію в крові підвищується майже у два рази, що зумовлено дією статевих гормонів на підвищення активності 1α -

гідроксилази, за впливу якої підвищується утворення $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у нирках [221].

Концентрація $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у плазмі крові курей-несучок у період овуляції збільшується, що обумовлено стимулюючим впливом естрогенів на синтез $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у нирках. Під час яйцекладки в плазмі крові курей підвищується й концентрація Ca, що спричинено посиленням утворення $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у нирках внаслідок активування 1α -гідроксилази за дії статевих гормонів [97, 135, 136]. Під впливом $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ підвищується інтенсивність синтезу CaЗБ в яйцепроводі, завдяки чому забезпечується посилення транспорту Ca в цьому органі курей у період яйцекладки і використання його в синтезі компонентів яйця.

На формування шкаралупи курячого яйця витрачається приблизно 2 г Кальцію, або біля 10% його загальної кількості в організмі курей. Вітамін D відіграє важливу роль у стимуляції метаболізму Ca в організмі птиці у період яйцекладки. Зокрема, під впливом $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, продукція якого в нирках птиці в період яйцекладки зростає, засвоєння Ca в тонких кишках підвищується.

Фосфор — важливий компонент раціону курей, він необхідний не лише для забезпечення метаболічних функцій, а й для формування яйця і, особливо, яєчної шкаралупи. Незважаючи на достатній валовий вміст Фосфору в зернових та бобових кормах, більша його частина перебуває у складі фітатів, які погано засвоюються птицею через низьку активність фітази [141, 145, 194, 257, 273, 276].

Вітамін D значно впливає на міцність шкаралупи яєць, а тим самим на їх товарну якість [185]. Встановлена пряма залежність між вмістом Ca в шкаралупі яєць і вмістом вітаміну D в раціоні птиці. Дефіцит вітаміну D призводить до поступового зниження товщини шкаралупи яєць навіть при високому рівні Ca в раціоні птиці [122, 146, 159, 178].

Ендохондріальний розвиток кісток регулюють $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ та $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, [97, 239]. Обидва вказані метаболіти вітаміну D_3 впливають на розвиток різних зон трубчастих кісток [135, 224]. Додавання до раціону курей лише $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ призводить до порушення розвитку ембріона, яке попереджується додаванням $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [37]. Встановлено, що лише при наявності $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ і $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у раціоні курей забезпечується нормальна виводимість яєць [173]. $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, відіграє важливу роль у забезпеченні гомеостазу Кальцію, у мінералізації кісток, у супресії розвитку і функції паращитовидних залоз, у розвитку ембріонів птиці [37]. За даними деяких авторів [136] оптимальне співвідношення $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ і $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ становить 1:10. Максимально дозволений вміст вітаміну D у раціонах курей становить 3000 МО/кг. Проте, результати досліджень останніх років показали надзвичайно низьку чутливість курей до токсичної дії вітаміну D при його передозуванні. Згідно з цими дослідженнями, кури без будь-яких негативних наслідків витримують згодовування вітаміну D у кількості 100 тис. МО на кілограм корму [211, 271].

1.8. Формування яєчної шкаралупи

Органи розмноження самок птахів складаються з яєчника, яйцепроводу, клоаки. Яйцепровід складається з лійки, шийки, білкового відділу, перешийка. Овуляція (переміщення жовтка з лівого яєчника у лійку яйцепроводу) відбувається зазвичай в першій половині дня, через 5-30 хвилин після знесення чергового яйця. Якщо яйце знесене у другій половині дня, овуляція відбудеться наступного ранку (або включення світла). У лійці яйцепроводу жовток затримується до 20 хвилин, потім через шийку надходить у найдовший білковий відділ, в якому протягом приблизно трьох годин утворюється основна частина білка. У перешийку яйцепроводу виділяється клейка речовина, яка, переплітаючись пучками, утворює

підшкаралупні оболонки. Яйце перебуває в перешийку близько години. Перешийок без чітко вираженої межі переходить в найширшу частину яйцепроводу — матку, де формується шкаралупа. Протягом декількох годин від початку утворення шкаралупи вона являє собою тонку оболонку, період інтенсивного формування шкаралупи займає 10–12 годин [198, 199, 144]. В останні 1,5–2,0 години до яйцекладки перебігає стадія завершення утворення шкаралупи, протягом цього часу здійснюються пігментація та формування кутикули.

У дослідженнях [231] показано, що маса шкаралупи яєць на 5-, 6-, 7-, 14- і 16-й годинах після овуляції становила 0,18, 0,28, 0,39, 2,73 та 3,33 г. Згідно з даними [148], на 10–12-й годинах після овуляції шкаралупа курячих яєць важила 2,15 г і містила 0,37 г Кальцію (17,21 %), а на 22–23-й годинах її маса становила 6,13 г, з яких на Кальцій припадало 2,23 г (36,38 %), тобто на 10-ту годину відносний вміст Кальцію удвічі менший, ніж на 22-гу годину.

Процес формування шкаралупи можна поділити на 3 стадії: ініціації, лінійного росту та завершення [199, 231]. На стадії ініціації, яка триває у середньому 4,5–5,0 годин після овуляції, на зовнішній поверхні мембрани шкаралупи утворюються багаті на органічні речовини центри кристалізації. Стадія лінійного росту 10-ї до 22-ї години після овуляції [144]. На стадії лінійного росту маса шкаралупи більш-менш рівномірно збільшується приблизно на 0,45 г за годину.

Під час кальцифікації залозистий шлунок секретує велику кількість соляної кислоти для розчинення Кальцію, а м'язовий шлунок активно виштовхує вміст у кишечник. Мінералізація шкаралупи яєць птахів — один з найшвидших процесів біогенної кальцифікації. Незважаючи на значну кількість досліджень, надалі детально не встановлені механізми кристалізації Кальцію при формуванні шкаралупи [231, 260, 262]. Мінералізація відбувається внаслідок відкладення плоских дископодібних частинок аморфного карбонату Кальцію на специфічних ділянках шкаралупної

мембрани, багаті на протеїн та на сульфати протеогліканів. Трансформація на цих ділянках агрегованих наночастинок аморфного карбонату кальцію у кристали кальциту здійснюється напряму без проміжних фаз, що підтверджено методами рентгеноструктурного аналізу, інфрачервоної спектроскопії та трансмісійної електронної мікроскопії [231, 244]. У порожнині матки підтримується необхідна концентрація аморфного карбонату Кальцію, завдяки чому забезпечується необхідний рівень мінералізації шкаралупи.

У процесі формування шкаралупи яйце обертається в порожнині матки і омивається її рідиною, яка містить усі необхідні органічні та неорганічні речовини [198], у тому числі й іонізований карбонат Кальцію. Карбонат кальцію надходить в порожнину матки з кров'яного русла шляхом транс-епітеліального транспорту через клітини маткових залоз [161] за участі іонного транспортера Кальцію та карбоангідрази, яка каталізує гідратацію CO_2 до HCO_3^- . [106, 161]. Крім цього, матка секретує у свою порожнину органічні компоненти шкаралупи: протеїни, полісахариди та протеоглікани [106], які модулюють преципітацію карбонату Кальцію [150]. Експресія у матці генів іонного транспортера, карбоангідрази, та органічних компонентів дуже інтенсивна, особливо вона посилюється під час інтенсивної кальцифікації шкаралупи [106, 161].

Перетворення аморфного карбонату Кальцію у кальцит каталізує специфічний протеїн матриксу шкаралупи — овоклеїдин-17 [142]. Крім того, у досліджах *in vitro* встановлено, що овальбумін та протеїни шкаралупи стабілізують аморфний та інші метастабільні форми карбонату Кальцію [175, 213, 258, 266].

1.9. Вплив розміру частинок джерела Кальцію на обмін речовин та продуктивність птиці

Кальцій — один з найважливіших мінеральних елементів для курей-несучок. Крім своїх основних біологічних функцій, які полягають у формуванні основи кісткової тканини та участі в підтриманні кислотно-лужного балансу ензиматичних систем, у курей він є головним компонентом яєчної шкаралупи. Яйце містить у середньому 2–3 г Кальцію [206], 95 % якого знаходиться в шкаралупі у вигляді Кальцію карбонату. Раціон курей-несучок повинен містити адекватну кількість Кальцію у оптимально засвоюваній формі для забезпечення таких значних потреб [54, 217, 227]. Додавання до раціону курей сполук Кальцію важливе ще й тому, що основний корм птиці — зерно містить невелику його кількість. З іншого боку, надлишок Кальцію в раціоні зменшує споживання корму та викликає порушення травлення [121]. Кількість та форма згодовування (розмір частинок і розчинність) Кальцію впливають на якість яєчної шкаралупи. Отже, при нормуванні вмісту Кальцію у раціоні курей необхідно враховувати не лише його кількість, але й форму згодовування [178].

Найпоширеніші джерело Кальцію для птиці — вапняк, черепашка і крейда які містять близько 38 % Кальцію у формі карбонату [235, 239, 116]. Дефіцит Кальцію у раціоні призводить до зменшення споживання корму, зниження яєчної продуктивності, ваги яйця, міцності яєчної шкаралупи [122, 163, 143, 215].

Хоча Кальцій у раціоні переважно нормують за валовим вмістом, не менш важливим параметром для птиці є розмір частинок джерела Кальцію [122, 178, 200, 212, 238].

Птиця краще засвоює Кальцій, якщо його згодовують у складі крупних частинок, оскільки триваліше перебування сполук Кальцію у шлунку птиці сприяє кращому його всмоктуванню у кишечнику [238]. Тривале

знаходження Кальцію у шлунку сприяє також його засвоєнню у нічний час, оскільки саме тоді формується яйце, а птиця не споживає корму [188, 230, 238]. Відомо, що низька розчинність та повільне засвоєння Кальцію сприяють зменшенню його мобілізації з кісткової тканини під час кальцифікації яєчної шкаралупи [243, 261]. Тому при використанні крупної фракції вапняку сприяє зменшенню мобілізації Кальцію з кісткової тканини курей [123, 148].

У світі ведуться дослідження з встановлення оптимального розміру кормових частинок різних джерел Кальцію для застосування їх у годівлі курей-несучок [130, 148, 170, 178, 206, 235]. Деякі дослідники пропонують вводити вапняк у раціон курей у вигляді декількох фракцій, проте не менше половини при цьому мають становити крупні частинки [134, 148, 157, 178, 232].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Загальна схема досліджень

Дослідження за темою дисертаційної роботи були виконані в період з 2008 до 2014 року за завданнями: «Розробити способи підвищення ефективності використання поживних речовин корму, продуктивності, репродуктивної здатності та імунобіологічної реактивності птиці» (№ ДР 0106U003039), шифр 28.01/016-03, та «Вивчити вікові та органо-тканинні особливості мінерального обміну, ліпідного та жирнокислотного складу субклітинних фракцій та активності травних ферментів курей-несучок» (ДР 0111U006145), шифр 31/8.02.02Ф01, що виконувались в лабораторії фізіології, біохімії та живлення птиці Інституту біології тварин НААН.

Експериментальна частина дисертаційної роботи виконана на курях-несучках кросу Хайсекс коричневий у трьох дослідях, проведено виробничу перевірку отриманих результатів.

У першому досліді вивчали вікові зміни біохімічних показників крові та складу яєць курей-несучок за згодовування їм різних фракцій вапняку та вплив різного розміру частинок вапняку в раціоні курей-несучок на метаболічний профіль крові, несучість, хімічний склад і морфометричні параметри яєць.

Дослід проведено на 150 курях-несучках кросу «Хайсекс коричневий» з 20- до 68-тижневого віку.

Кури були розділені на 3 групи по 50 голів у кожній. Кури всіх груп отримували однаковий за складом раціон, який різнився лише за розміром

частинок вапняку. Кури 1-ї групи утримувались на раціоні, що містив вапняк розміром менше 1 мм, 2-ї групи — 1–2 мм, 3-ї — 2–3 мм.

Зразки крові брали з підкрильцевої вени на 20-й, 44-й та 68-й тижні життя. Щомісяця від кожної групи курей брали по 10 яєць для досліджень.

У другому досліді вивчали вплив різних доз вітаміну D₃ у раціоні курей-несучок на метаболічний профіль крові, деякі метаболічні показники у печінці та яйцепроводі, несучість, склад і морфометричні параметри яєць.

Для проведення досліді сформували три групи курей-несучок по 50 голів у кожній, кросу «Хайсекс коричневий» 180-денного віку. Курям-несучкам згодовували комбікорм, аналогічний до того, що використовували у першому досліді, який забезпечував їх потребу в основних елементах живлення згідно з деталізованими нормами. Премікс виготовляли самостійно для зміни у його складі вмісту вітаміну D₃.

Кури-несучки 1-ї групи протягом 30-ти днів отримували раціон з вмістом вітаміну D₃ 1250 МО/кг, 2-ї групи — 2500 МО/кг, 3-ї групи — 3750 МО/кг. Тобто 2-а група отримувала стандартну кількість вітаміну D₃, а 1-а і 3-я групи на 50% меншу і більшу кількість вітаміну D₃.

Наприкінці досліді провели забій 10 курей-несучок з кожної групи. Для біохімічних досліджень брали кров, тканини печінки, яйцепроводу, яєць.

Третій дослід мав теоретично-пошукове спрямування. Підставою для його проведення була, по-перше, встановлена закордонними дослідниками дія високих доз вітаміну D₃ на імунний статус лабораторних тварин, по-друге, виявлена дуже низька токсичність вітаміну D₃ для птахів, зокрема кури без жодних негативних наслідків витримують тривале введення до раціону 100 тис. МО/кг вітаміну D₃.

Дослід проведено на трьох групах курей-несучок по 50 голів у кожній, кросу «Хайсекс коричневий» з 180- до 210-денного віку. Кури отримували стандартний повнораціонний комбікорм, аналогічний до того, який застосовували у першому досліді. Вміст вітаміну D₃ у раціоні курей 1-ї

(контрольної) групи становив 2,5 тис. МО/кг. До раціону курей 2- і 3-ї груп додатково вводили кормову добавку Ромівікс D 500, доводячи вміст вітаміну Д₃ у раціоні до 5,0 і 10,0 тис. МО/кг. Споживання комбікорму становило 100–110 г/голову/день.

У кінці досліду відбирали зразки венозної крові в 10-ти курей та по 10 яєць з кожної групи.

Утримання птиці кліткове, з вільним доступом до корму і води [73]. Дослідження проводили відповідно до національних «Загальноетичних принципів експериментів на тваринах, які узгоджувалися з положенням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей.

Таблиця 2.1

Склад раціону курей, %

Компоненти	Вік курей, тижні	
	20–47	48–68
Кукурудза	15	15
Пшениця	50	52
Макуха соєва	10	10
Шрот соняшниковий	10	8
Дріжджі кормові	4	4
Монокальційфосфат	1	1
Вапняк	9	9
Премікс	1	1
Всього	100	100

Таблиця 2.2

Поживність раціону курей (в 1 кг корму)

Показники поживності	Вік курей, тижні	
	20–47	48–68
ОЕ, МДж	11,21	10,95
Суша речовина, г	859,11	841,11
Сирий протеїн, г	174,51	166,15
Перетравний протеїн, г	141,51	133,65
Сирий жир, г	29,08	27,40
Сира клітковина, г	48,19	47,11
Крохмаль, г	339,98	339,57
Цукор, г	27,97	25,97
Кальцій, г	35,02	34,93
Фосфор, г	6,72	6,58
Магній, г	1,84	1,78
Сірка, г	1,39	1,34
Лізин, г	0,81	0,83
Метіонін, г	0,44	0,42

2.2. Методи дослідження

Вміст загального протеїну у плазмі крові визначали біуретовим методом з використанням набору реагентів фірми «Lachema».

В основі лежить кольорова реакція з біуретовим реактивом: білки в лужному середовищі реагують із купрум сульфатом, при цьому утворюються сполуки, забарвлені у фіолетовий колір.

Вміст глюкози у плазмі крові визначали глюкозооксидазним методом за допомогою наборів фірми «Біомарк» (Україна). Принцип методу полягає в тому, що при окисненні глюкози глюкозооксидазою утворюється H_2O_2 ,

який за присутності пероксидази окислює о-діанізидин, перетворюючи його на сполуку, забарвлену в синій колір.

0,02 мл плазми крові переносили у пробірку, в якій містилось 4,5 мл пероксидазного буферу та 0,5 мл глюкозооксидозного реактиву. Ставили на 30 хв. у водяну баню за температури 37 °С і після охолодження проб додавали 1,5 мл 50 % сірчаної кислоти. Інтенсивність забарвлення визначали фотометрично при довжині хвилі 530 нм.

Кількість глюкози вираховували за формулою:

$$X = E \times 320,$$

де E — оптична щільність досліджуваної проби;

320 — стабільна величина.

Визначення концентрації загальних ліпідів у плазмі крові проводили за кольоровою реакцією з сульфосфосваніліновим реактивом за методом N. Zollner, K. Kirsch (1962) з використанням набору стандартних реактивів «Lachema» (Чехія).

Метод базується на тому, що нейтральні ліпіди і жирні кислоти, фосфоліпіди і ефіри холестеролу після гідролізу з сірчаною кислотою взаємодіють з фосфосваніліновим реактивом (ортофосфорна кислота, 11,5 ммоль/л + ванілін, 10 ммоль/л), утворюючи рожеве забарвлення. Інтенсивність забарвлення визначали на спектрофотометрі при довжині хвилі 530 нм.

Вміст триацилгліцеролів у сироватці крові за вмістом формальдегіду, який утворюється при окисненні гліцерилу після омилення гідрооксидом калію триацилгліцеролів. Формальдегід визначають за реакцією з метиленом і амонієвими йонами як жовтий 3,5-діацетил-1,4-дигіддролутидин (набір реактивів «Lachema», Чехія). Для дослідження брали 0,1 мл сироватки крові. Як еталон використовували розчин триолеїну. Фотометрування проводили при довжині хвилі 420 нм.

Вміст НЕЖК у плазмі крові. Принцип методу ґрунтується на утворенні солей вільних жирних кислот з міддю. Для їх колориметричного визначення застосовують кольорову реакцію з 1,5-дифенілкарбазидом.

У пробірки з притертим корком вносили 0,1 мл сироватки або плазми крові, 3 мл екстракційної суміші та 0,9 мл мідного реагенту. Пробірки закривали і ретельно струшували протягом 3 хв. Центрифугували 5 хв при 3000 об/хв. Після цього обережно відбирали 1,8 мл верхньої фази в інші пробірки, додавали 0,5 мл розчину 1,5-дифенілкарбазиду, перемішували і залишали на 15 хв для утворення рожево-малинового забарвлення. Інтенсивність забарвлення вимірювали через 15 хв на спектрофотометрі при довжині хвилі 550 нм. Одночасно обробляли контрольну пробу і стандарт.

Підрахунок проводили за формулою:

$$X = \frac{A \cdot B \cdot 10000}{C},$$

де X — вміст жирних кислот, мкмоль/л;

A — кількість мікромолів пальмітинової кислоти у стандарті;

B — екстинкція дослідної проби;

C — екстинкція стандартної проби;

10000 — коефіцієнт перерахунку у мкмоль/л.

Визначення вмісту загального холестеролу проводили після його ензимного гідролізу і окиснення [64]. Хінонімін, індикаторна речовина, за якою визначають холестерол, утворюється з пероксиду гідрогену і 4-амінофеназону у присутності фенолу і пероксидази.

Визначення вмісту активного метаболіту вітаміну D₃ — 25-OHD₃ у сироватці крові виконано методом імуноферментного аналізу (ELISA) за допомогою набору реактивів фірми «Immundiagnostik» (Німеччина). Принцип методу базується на конкуренції 25-OHD₃ сироватки крові з 25-

ОНD₃-трейсером за зону зв'язування вітамін D-зв'язуючого протеїну (VDBP, Gc-глобулін).

Визначення загального Кальцію проводили за допомогою стандартного набору, виготовленого фірмою «SIMKO Ltd» (Україна). Метод базується на утворенні кольорової реакції з арсеназою III, за методом P. J. Bauer. При нейтральному рН Кальцій утворює з розчином барвника комплекс синього кольору, інтенсивність якого визначали на спектрофотометрі.

Концентрацію кальцію (Ca, ммоль/л) у сироватці крові розраховували за формулою:

$$Ca = (E_d / E_{ст}) \times 2,5,$$

де E_d — E — екстинкція (оптична густина) дослідної (д) проби;

$E_{ст}$ — E — екстинкція стандартної (ст) проби;

2,5 — коефіцієнт переведення в ммоль/л.

Визначення вмісту іонізованого Кальцію у плазмі крові проводили за допомогою методу обмінної адсорбції. Як адсорбент використовували нейтральний оксид алюмінію, стандартизований за Брокманом, II ступеня активності. Іонізований Кальцій розраховували за різницею між загальним Кальцієм і Кальцієм, який не вступив в іонний обмін. Вміст іонізованого Кальцію визначали за методикою визначення загального Кальцію.

Визначення концентрації неорганічного Фосфору проводили за допомогою стандартного набору, виготовленого фірмою «SIMKO Ltd» (Україна). Метод базується на утворенні кольорової реакції малахітового зеленого з фосфорномолібденовою кислотою за методом В. В. Меньшикова [39]. Неорганічний фосфор утворює з молібденовою кислотою фосфорномолібденову гетерополікислоту, яка реагує з основним барвником — малахітовим зеленим і дає зеленувато-синє забарвлення. У сильно кислому середовищі іони фосфору утворюють комплекс з молібдатом.

Поглинання цього комплексу в ультрафіолетовій області пропорційне концентрації Фосфору. Розрахунок проводили за калібрувальним графіком.

Визначення вмісту Магнію проводили за допомогою стандартного набору фірми «SIMKO Ltd» (Україна). Метод базується на тому, що в лужному розчині Магній утворює з індикатором (кальмагітом) забарвлений комплекс, який визначають фотометрично при довжині хвилі 520 нм. Забарвлення стабільне. Вплив Кальцію попереджується введенням в реагуючий розчин EGTA.

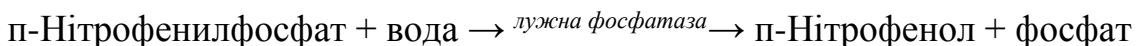
Вміст Магнію вираховують за формулою:

$$\text{Магній(ммоль/л)} = \frac{E_{\text{досл}} \times 0,823 \text{ ммоль/л}}{E_{\text{ст}}},$$

де $E_{\text{досл}}$ і $E_{\text{ст}}$ — поглинання дослідної, стандартної проби в концентрації 0,823 ммоль/л.

Визначення активності лужної фосфатази (лужна фосфогідролаза моноестерів ортофосфорної кислоти, К.Ф.3.1.3.1.) в сироватці крові проводили з використанням набору реактивів фірми «Філіст» (Україна), (Кінетичний метод з ДЕА-буфером). Метод базується : лужна фосфатаза в лужному середовищі каталізує перенесення фосфатної групи від п-нітрофенілфосфата до діетаноламіну, звільняючи п-нітрофенол.

Кількість п-нітрофенолу, що утворився в одиницю часу, пропорційна активності ферменту і визначається по зміні оптичної щільності розчину зразка в одиницю часу при довжині хвилі 405 нм.



Визначення вмісту дієнових кон'югатів [67; 70]. В основі методу лежить властивість спряжених подвійних зв'язків інтенсивно поглинати світло при довжині хвилі $\lambda=233$ нм. Для дослідження відбирали 0,2 мл плазми крові. Оптичну густину вимірювали на спектрофотометрі (СФ-46)

при довжині хвилі 233 нм проти контролю. Контролем служило 0,5 мл н-гептан в 20 мл етилового спирту.

Для кількісного визначення дієнових кон'югатів використовували коефіцієнт молярної екстинції $2,2 \times 10^5$ моль⁻¹см⁻¹.

Концентрацію дієнових кон'югатів вираховували за формулою:

$$K = ((E_1 - E_2) 103) \div M,$$

де K — концентрація дієнових кон'югатів, ммоль/л;

E_1 — екстинція дослідної проби, од.екс;

E_2 — екстинція контрольної проби, у якій біологічний матеріал замінювали сумішшю н-гептан-ізопропанол, од.екс;

M — 0,2 мл крові.

Вміст гідроперекисів ліпідів у плазмі крові визначали за методом, описаний В. В. Мирончиком (1984) [1]. Метод базується на спектрофотометричному вимірюванні оптичної густини продуктів реакції з тіоцинатом амонію, сіллю Мора і хлоридною кислотою, після попередньої екстракції ліпідів метиловим спиртом (співвідношення метанолу до об'єму плазми крові — 13:1).

Для дослідження відбирали 0,2 мл плазми крові або гомогенату тканин. Вимірювання оптичної густини проводили протягом 10 хвилин після додавання тіоцинату амонію на спектрофотометрі «Spekol 11» при довжині хвилі 480 нм.

Вміст гідроперекисів ліпідів в біологічному матеріалі виражали у величинах оптичної густини при 450 нм на 1 мл плазми крові:

$$\Delta D = (E_{450 \text{ досл.}} - E_{450 \text{ контр.}}) \times 5$$

Визначення концентрації ТБК-активних продуктів (малонового діальдегіду — МДА) у плазмі крові проводили за ТБК-тестом, методом, описаним Е.Н. Коробейніковою [33]. В основі методу лежить реакція між малоновим діальдегідом (МДА) і тіобарбітуровою кислотою, що за умов

високої температури і кислих значень рН призводить до утворення триметилового комплексу. Останній містить одну молекулу МДА і дві молекули ТБК.

Для досліджень відбирали 0,5 мл плазми крові або 1 мл гомогенату тканин. Оптичну густину вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 535 і 580 нм. Дворазове вимірювання оптичної густини дозволяє виключити поглинання забарвлених комплексів тіобарбітурової кислоти з речовинами неліпідної форми. Концентрацію МДА визначали використовуючи коефіцієнт молярної екстинції $0,156 \text{ мкМ}^{-1}/\text{см}^{-1}$.

Визначення активності супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1) здійснювали методом, описаним Дубініною (1983) [29], принцип якого полягає у відновленні нітротетразолію супероксидними радикалами, що утворюються в реакції між феназинметасульфатом і відновленою формою нікотинаміддинуклеотиду (НАДН). Утворення нітроформазау, продукту відновлення нітротетразолію, блокується наявною СОД.

Для дослідження брали 1 мл крові або 1 мл гомогенату тканин. Вимірювали екстинцію при довжині хвилі 540 нм. У контрольній пробі замість гемолізату еритроцитів або тканини використовували дистильовану воду. Активність ферменту визначали за формулою:

$$X = (E_{\text{к. пр.}} \times E_{\text{д. пр.}}) \div E_{\text{к. пр.}},$$

де X — ступінь блокування нітроформазау;

$E_{\text{к. пр.}}$ — екстинція контрольної проби, од. екст.;

$E_{\text{д. пр.}}$ — екстинція дослідної проби, од. екст.

Визначення активності глутатіонпероксидази (КФ 1.11.1.9) в еритроцитах крові та тканинах здійснювали методом, описаним В. М. Моїном [21]. Мірою активності ферменту глутатіонпероксидази є швидкість окислення глутатіону в присутності гідропероксиду третинного бутилу. Суть методу полягає у розвитку кольорової реакції з 5,5-дітіобіс-2-нітробензойною кислотою (ДТНБК) з утворенням кольорового продукту

тіонітрофенільного аніону (ТНФА). Кількість останнього прямопропорційна кількості SH-груп, які прореагували з ДТНБК.

Для дослідження відбирали 0,1 мл гемолізату еритроцитів або гомогенату тканин. Визначали оптичну густину проб на спектрофотометрі (СФ-46) при довжині хвилі 412 нм в 1 см кюветі проти дистильованої води. Глутатіонпероксидазну активність виражали в нмоль GSH/мг протеїну за 1 хв.

Визначення активності каталази проводили методом, описаним М. А. Королюком (КФ 1.11.1.6) [34]. Принцип методу базується на здатності пероксиду водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі (СФ-46) за довжини хвилі 410 нм проти води.

Визначення жирнокислотного складу ліпідів крові проводили з використанням методу газорідинної хроматографії [8; 69; 77] на газовому хроматографі Chrom-5.

Ліпіди екстрагували методом Фолча хлороформ-метанольною сумішшю (2:1).

На хроматографі отримували піки загальних ліпідів жирних кислот, які були у досліджувальному матеріалі в етерифікованій та неетерифікованій формах. Розрахунок вмісту окремих ЖК проводили за формулою:

$$X = ((H \times C \times K) \div H_{\text{СТ}}) \times 100) \div P, \text{ мг\%,}$$

Де H — висота піка хроматограми досліджуваної жирної кислоти, мм;

C — кількість внутрішнього стандарту, мг;

K — поправочний коефіцієнт для досліджуваної жирної кислоти;

$H_{\text{СТ}}$ — висота піка внутрішнього стандарту, мм;

P — кількість речовини взятої для екстракції, г.

Жирнокислотний склад загальних ліпідів, печінки, яйцепроводу та жовтка яєць проводили цим же методом.

Визначення кількості еритроцитів. Кількість еритроцитів підраховували у сітці лічильної у камері Горяєва [52]. Для підрахунку еритроцитів кров'ю заповнювали меланжер до позначки 0,5 і доводили фізіологічним розчином до мітки 101 (розведення у 200 разів). Скляною паличкою з пробірки брали 1–2 краплі розведеної крові і заповнювали ними камеру, починаючи з краю покривного скла. Еритроцити підраховували через 1 хв. Підрахунок числа еритроцитів проводили у 5 великих або 80 малих квадратах, розміщених по діагоналі. Враховували еритроцити, які лежать у середині малого квадрату, а також на лівій та верхній лініях.

Визначення концентрації гемоглобіну здійснювали геміглобінціанідним колориметричним методом [52]. У пробірку внесли 5 мл трансформуючого розчину та додали 20 мкл цільної крові. Вміст пробірки старанно перемішували та залишали на 30 хвилин.

Оптичну густину отриманого розчину визначали на спектрофотометрі при 540 нм проти трансформуючого розчину.

Визначення кількості лейкоцитів. Кількість лейкоцитів підраховували у сітці лічильної камери Горяєва [52]. У пробірку вносили 0,4 мл 3 % розчину оцтової кислоти, пофарбовану метиленовою синькою (з розрахунку 1 мл 1 % водного розчину барвника на 100 мл оцтової кислоти) і 0,02 мл цільної крові за допомогою капілярної піпетки. Кількість лейкоцитів підраховували під мікроскопом, використовували збільшення (8х, окуляр-10х) у 100 великих квадратах (1600 малих).

Диференційний підрахунок лейкоцитів (лейкограма). Підрахунок лейкоцитарної формули крові здійснювали за допомогою світлового мікроскопа при імерсійному збільшенні об'єктива $\times 90$. Починали підрахунок крові від середини зафарбованого мазка, переміщуючи предметне скло зигзагоподібно від центру до краю по всій поверхні мазка (по лінії «Меандра»). У крові виявили такі форми лейкоцитів: гранулоцити —

базофіли, еозинофіли, нейтрофіли (паличко- та сегментоядерні); агранулоцити — лімфоцити, моноцити.

Визначення фагоцитарної активності проводили за методикою Гостєва (В.М. Митюшниковим (1985) [70]. Як тест-мікроб використовували інактивовану добову культуру лабораторного штаму *E. coli* (штам 1033 F 41, S-форма МПА). Фагоцитарну реакцію нейтрофілів оцінювали за фагоцитарною активністю (ФА), числом (ФЧ) та індексом фагоцитозу (ІФ).

З цією метою 0,2 мл гепаринізованої крові вносили у пробірку і мікропіпеткою додавали стандартизовану до 2 млрд/мл добової культури *E. coli*. Вміст пробірок добре збовтували і ставили на водяну баню за температури 37 °С на 30 хвилин. Потім готували мазки на предметних скельцях, висушували їх на повітрі і фарбували за методом Романовського-Гімзи. Для повної характеристики фагоцитозу визначали фагоцитарну активність за кількістю активних лейкоцитів зі 100 підрахованих, яку виражали у відсотках. Фагоцитарний індекс — за кількістю фагоцитованих мікробних тіл, яка припадає на один активний нейтрофіл і характеризує поглинаючу здатність фагоцитів. Фагоцитарне число — кількість фагоцитованих мікробних тіл на 100 підрахованих нейтрофілів. Фагоцитарне число (ФЧ) і фагоцитарний індекс (ФІ) вираховували за формулами:

$$\text{ФІ} = \text{к-сть фагот-х мікроорганізмів/ФА};$$

$$\text{ФЧ} = \text{к-сть фагот-х мікроорганізмів/100}.$$

Для оцінки кілінгу нейтрофілів (завершеності фагоцитозу) використовували тест відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест). Суть реакції полягає в тому, що при взаємодії клітинних елементів крові з розчином безбарвного нітросинього тетразолію (НСТ) нейтрофільні гранулоцити поглинають тетразолій і під впливом лізосомального ферменту НАДФ-оксидази, відновлюють його в нерозчинний темно-синій формазан.

Визначення активності лізоциму проводили нефелометричним методом В. Г. Дорофейчука [70] з добової культури *Mycrococcus lysodeikticus* (штам ВКМ-109), вирощеної на скошеному агарі, готували наважку на фосфатному буфері (рН 7,2–7,4), яку стандартизували на ФЕКу при використанні зеленого світлофільтра в кюветах з робочою довжиною 3 мм (довжина хвилі $\lambda=540$ нм). При нефелометрії вихідної зависі світлопроникнення повинно становити 20 % (0,46–0,50 од. опт. густини). До 1,47 мл приготовленого мікробного змиву культури *Mycrococcus lysodeikticus* додали 0,03 мл досліджуваної сироватки крові, пробірку струсили і витримали в термостаті за температури 37 С впродовж години. Після повторного струшування провели нефелометрію. Показники реєстрували за шкалою світлопроникнення правого барабану. Відсоток активності лізоциму визначали за числовими показниками. Для цього відсоток світлопроникнення вихідної мікробної зависі (20 %) вираховували з відсотка світлопроникнення наважки, що досліджувалась.

Дослідження бактерицидної активності сироватки крові (БАСК) проводили фотонейфелометричним методом за Ю. М. Марковим [70] за відношенням до тест-культури *E. coli*.

Визначення вмісту макро і мікроелементів у жовтку, білку та шкаралупі. Вміст Кальцію, Магнію, Фосфору, Феруму, Купруму та Цинку у біологічному матеріалі визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі С-115 ПК [70].

Для проведення аналізу відібрані зразки жовтків, білків, шкаралуп яєць висушували у сушильній шафі (за температури 100–105 °С) до сталої маси і спалювали у муфельній печі за температури 450–500 °С до повного озолення. Отриману золу охолоджували і розчиняли в 10 % розчині НСL. Отримані розчини золи спектрофотометрували при строго визначеній довжині хвилі на С-115 ПК з комп'ютерною програмою, яка з врахуванням

ступеня розведення забезпечувала одержання цифрових даних вмісту досліджуваного елемента.

Вміст загальних ліпідів у тканинах та яйці визначали методом Фолча [70; 140]. 1 г досліджуваного матеріалу заливали сумішшю хлороформ-метанолу (2:1) — 5 мл. Гомогенізували 3–5 хв. Зливали в центрифужні пробірки і центрифугували 15 хв при 3–5 тис. об/хв. Нижню частину зливали до колбочки, знову гомогенізували 3–5 хв у хлороформ-метанолі (2:1). Цю операцію повторювали тричі. Після цього брали об'єднані екстракти і вимірювали об'єм, додаючи 1/5 (за об'ємом) 0,74 % розчину КС1. Ретельно змішували і залишали на 12 год для розділення шарів. Верхній водно-метаноловий шар екстракту відбирали пастерівською піпеткою (за допомогою водоструминного насосу). Нижній шар кількісно переносили у попередньо зважену та доведену до постійної маси фарфорову чашку і випаровували (при 40 °С) під витяжною шафою до сталої маси. Підрахунок проводили за формулою:

$$X = \frac{M_a - m}{d} \cdot 100,$$

де X — кількість ліпідів, %;

M_a — маса чашечки з випарованим екстрактом, г;

m — маса чашечки, г;

d — маса тканини, г.

Визначення складу ліпідів у тканинах і яйці проводили методом тонкошарової хроматографії на силікагелі у системі розчинників гексан-хлороформ-льодяна оцтова кислота 70:30:1 [66, 77, 168].

Визначення сухої речовини. Принцип методу полягає у висушуванні зразка до сталої маси за температури не більше 105 °С.

У металічний (скляний) бюкс з кришкою і скляною паличкою поміщали 15–20 г піску та висушували у сушильній шафі до сталої маси за температури 105±2 °С. Після цього зважували 1–5 г яєчної маси (білка,

жовтка або змішаної маси в цілому), додавали 5 мл 96 ° етилового спирту і добре перемішували. Відкритий бюкс поміщали в сушильну шафу і сушили протягом 12 годин за температури 70 ± 2 °С, періодично перемішуючи вміст. Потім пробу сушили за температури 105 ± 2 °С протягом чотирьох годин. Після висушування бюкс закривали кришкою, охолоджували в ексікаторі до кімнатної температури і зважували.

Вміст сухої речовини вираховували за формулою:

$$X = \frac{m_1 - m_2}{m} \cdot 100,$$

де X — вміст сухої речовини, %;

m_1 — маса бюкса з кришкою, піском, скляною паличкою і пробєю до висушування, г;

m_2 — маса бюкса з кришкою, піском і скляною паличкою після висушування, г;

m — маса наважки, г;

100 — коефіцієнт перерахунку у проценти.

Вміст протеїну в жовтці, білку та шкаралупі яєць визначали методом К'ельдаля [70]. Метод базується на здатності органічних сполук при нагріванні з концентрованою кислотою окислюватися до вуглекислого газу і води. При цьому азот вивільняється у формі аміаку і вловлюється за допомогою сульфатної кислоти з утворенням сірчаноокислого амонію.

Для спалювання відбирали 0,2 г. Матеріал спалювали в колбах К'ельдаля з концентрованою сульфатною кислотою і 6 % розчином сульфату Купруму. Після мінералізації відгонку аміаку проводили в апараті Мікроельдаля, для вловлювання його використовували 0,1 н розчин сульфатної кислоти. Незв'язану сульфатну кислоту відтитрували 0,1 н розчином гідроокису натрію. Кількість азоту вираховували за кількістю зв'язаної кислоти, виходячи з того, що 1 мл 0,1 н розчину сульфатної кислоти відповідає 1,4 мг азоту.

Для внесення поправки на чистоту реактивів проводили контрольне визначення. Для цього брали 1 мл дистильованої води, а всі наступні дії описані вище. Для перерахунку процентного вмісту азоту на білок одержані дані множили на коефіцієнт 6,38.

Вміст загального протеїну можна вирахувати за формулою:

$$N = ((K - П) \div a) \times 1,4 \times T \times 100, \text{ мг\%},$$

де К — кількість мл 0,1 н розчину NaOH, що пішла на титрування контрольної проби;

П — кількість мл 0,1 н розчину NaOH, що пішла на титрування дослідної проби;

а — кількість матеріалу;

1,4 — коефіцієнт, 1 мл 0,1 н розчину H₂SO₄ відповідає 1,4 г азоту;

T — поправка на титр.

Визначення міцності яєчної шкаралупи здійснювали підрахунком числа дозованих ударів по шкарлупі до появи тріщини (вм'ятини), ПУД-2. [70].

Визначення індексу форми яєць. Визначали методом ділення найбільшого поперечного діаметра на повздовжній. Для визначення діаметру яйця користуються штангенциркулем. Індекс форми виражають у відсотках [70].

Статистичну обробку виконували з використанням програми Microsoft Excel [40].

РОЗДІЛ 3

ВЛАСНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Вплив розміру частинок вапняку в раціоні курей-несучок на обмін речовин та яєчну продуктивність

3.1.1. Метаболічний профіль крові курей-несучок. Кальцій — один з найважливіших мінеральних елементів для курей-несучок. Крім своїх основних біологічних функцій, які полягають у формуванні основи кісткової тканини та участі в підтриманні кислотно-лужного балансу ензиматичних систем, у курей він є головним компонентом яєчної шкаралупи. Яйце містить у середньому 2,2 г Кальцію, який міститься переважно саме у шкаралупі.

Додавання до раціону курей сполук Кальцію важливе ще й тому, що основний корм птиці — зерно містить невелику його кількість. З іншого боку, надлишок Кальцію в раціоні зменшує споживання корму та викликає порушення травлення.

Птиця краще засвоює Кальцій, якщо його згодовують у складі крупних частинок, оскільки триваліше перебування сполук Кальцію у шлунку птиці сприяє кращому його всмоктуванню у кишечнику. Тривале знаходження Кальцію у шлунку сприяє також його засвоєнню у нічний час, оскільки саме тоді формується яйце, а птиця не споживає корму. Кількість та форма згодовування (розмір частинок і розчинність) Кальцію впливають на якість яєчної шкаралупи.

Вміст загального білка у плазмі крові курей зменшувався з віком (табл. 3.1). На 44 тиждень життя порівняно з 20 тижнем, у плазмі крові курей 1-ї групи, які отримували вапняк з розміром частинок до 1 мм, вміст загального білка був меншим на 5,17 %, у плазмі крові курей 2-ї групи (вапняк розміром 1-2 мм) концентрація білка знизилась на 12,27 %, а у курей

3-ї групи (вапняк розміром 2–3 мм) цей показник був меншим на 10,44 %. При порівнянні вмісту загального білка плазми крові курей у 20- та 68-тижневому віці встановлено, що він наприкінці досліду у курей усіх груп менший ніж на початку приблизно на однакову величину: у 1-й групі — на 14,32 %; у 2-й — на 14,60 %; у 3-й — на 15,94 %. Міжгрупове порівняння вмісту загального білка плазми крові курей у різному віці показало, що розмір частинок вапняку не впливає на вказаний показник.

Отже, незалежно від фракції згодовуваного вапняку, у курей-несучок з віком знижується концентрація загального білка, що пов'язано очевидно з напруженістю обміну речовин під час інтенсивної яйцекладки. Разом з тим, концентрація загального білка плазми крові протягом досліду не виходила поза межі фізіологічної норми.

Таблиця 3.1

Вміст загального білка у плазмі крові, г/л ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1-2 мм	2-3 мм
20	53,01±3,64	55,42±1,93	52,81±0,99
44	50,27±2,13	48,62±1,93	47,35±1,10
68	45,21±0,66	47,33±1,25*	44,39±1,35
Середнє	49,49±1,45	50,45±1,15	48,18±0,74

Примітка: у цій і наступних таблицях вірогідність різниць між 1, 2 і 3 групами враховували * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$

Подібні результати отримані за вмістом глюкози, який також зменшувався з віком (табл. 3.2). Проте, на відміну від загального білка, концентрація глюкози у плазмі крові знижувалась у більш пізньому віці. Так, на 44-й тиждень життя цей показник у курей кожної групи незначно відрізнявся від показника 20-тижневих курей. У 68-тижневому віці, порівняно з 20-м тижнем життя, концентрація глюкози у плазмі крові курей

1-ї групи знизилась на 12,48 % , 2-ї групи — на 7,87 % , 3-ї групи — на 7,50 % ($p < 0,05$). Крім того, виявлено вплив розміру фракції вапняку на концентрацію глюкози у курей, які отримували вапняк з більшим розміром частинок.

На 20-й тиждень життя у плазмі крові курей групи, яка отримувала вапняк фракції 1–2 мм вміст глюкози був на 10,58 % вищим, ніж у курей, яким згодовували вапняк розміром до 1 мм ($p < 0,05$). У курей, які отримували вапняк розміром 2–3 мм вміст глюкози у крові також був більшим, проте ця різниця статистично не вірогідна. На 44-й тиждень життя у плазмі крові курей 2-ї та 3-ї груп також виявлено зростання концентрації глюкози, проте у цьому віковому періоді вірогідну різницю у 6,85 % спостерігали в курей, що отримували вапняк розміром 2-3 мм.

У середньому за дослід концентрація глюкози у плазмі крові курей 2-ї та 3-ї груп переважала відповідний показник курей 1-ї групи на 5,99 ($p < 0,05$) та 5,16 %.

Таблиця 3.2

Вміст глюкози в плазмі крові, ммоль/л ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1-2 мм	2-3 мм
20	5,01±0,19	5,54±0,18*	5,37±0,29
44	5,11±0,13	5,30±0,17	5,46±0,21
68	4,39±0,12	4,55±0,21	4,43±0,15
Середнє	4,84±0,08	5,13±0,04*	5,09±0,13

Вміст загальних ліпідів у плазмі крові курей не залежав від віку та розміру частинок вапняку (табл. 3.3), проте виявлено відмінності у вмісті окремих класів ліпідів.

Таблиця 3.3

Вміст загальних ліпідів в плазмі крові, г/л (M±m, n=10)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1-2 мм	2-3 мм
20	24,31±1,33	23,19±0,35	25,78±1,70
44	26,70±0,51	27,31±0,48	25,82±0,74
68	24,35±0,29	24,67±0,42	24,22±0,51
Середнє	25,12±0,57	25,05±0,18	25,27±0,73

Вміст триацилгліцеролів у плазмі крові курей у 20- та 44-тижневому віці не залежав від розміру вапняку у раціоні (табл. 3.4). На 68-й тиждень життя у курей 1-ї групи виявлено зниження вмісту триацилгліцеролів плазми крові. При збільшенні фракції кормового вапняку до 1–2 та 2–3 мм вікова різниця вмісту триацилгліцеролів була знівельована. Внаслідок цього, у 68-тижневому віці вміст триацилгліцеролів у плазмі крові курей 2-ї і 3-ї груп був більший, ніж у 1-ї курей групи, причому для 3-ї групи різниця статистично вірогідна ($p<0,01$). У середньому за дослід зростання концентрації триацилгліцеролів наявне лише у плазмі крові курей 3-ї групи ($p<0,01$).

Таблиця 3.4

Вміст триацилгліцеролів у плазмі крові, ммоль/л (M±m, n=10)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1-2 мм	2-3 мм
20	0,47±0,03	0,46±0,03	0,50±0,01
44	0,50±0,02	0,53±0,03	0,55±0,02
68	0,38±0,03	0,42±0,02	0,51±0,03**
Середнє	0,46±0,01	0,47±0,02	0,52±0,02*

Отже, у курей, що отримували вапняк фракції до 1мм з віком зменшується вміст триацилгліцеролів плазми крові, а збільшення розміру вапняку до 1–2 та 2–3 мм нівелює вказаний ефект. Такий вплив має позитивний ефект на енергетичне забезпечення організму курей, враховуючи, що у них у 68-тижновому віці знижувався вміст іншого енергетичного субстрату — глюкози.

На концентрацію неестерифікованих жирних кислот у плазмі крові розмір частинок вапняку не вплинув (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Вміст НЕЖК у плазмі крові, ммоль/л ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1-2 мм	2-3 мм
20	0,30±0,02	0,31±0,02	0,30±0,01
44	0,33±0,03	0,35±0,02	0,34±0,03
68	0,32±0,01	0,33±0,03	0,30±0,03
Середнє	0,32±0,01	0,33±0,02	0,33±0,01

Вміст загального холестеролу в плазмі крові курей-несучок залежав як від віку, так і від розміру частинок вапняку (табл. 3.6). У групі, яка отримувала вапняк з розміром частинок до 1 мм вміст холестеролу в плазмі крові на 44-й і 68-й тижні життя збільшився на 3,72 і 9,30 % ($p < 0,05$). Для груп, що отримували вапняк фракцій 1–2 та 2–3 мм ці різниці становили, відповідно, 5,94 і 9,59 % ($p < 0,01$) та 0,84 і 3,38 %. Отже, з віком у крові курей зростає концентрація холестеролу, при чому більшою мірою ці зміни виражені при згодовуванні вапняку фракцій до 1 та 1–2 мм, тоді як за розміру частинок 2-3 мм збільшення концентрації холестеролу помірне.

Виявлено також зростання концентрації загального холестеролу в плазмі крові при збільшенні розміру частинок вапняку. Так, на 20-й тиждень

життя у крові курей, яким згодовували вапняк з розміром частинок 1–2 і 2–3 мм вміст загального холестеролу в плазмі крові був більшим, ніж у плазмі крові курей, що отримували вапняк розміром до 1 мм на 1,86 і 10,23 % ($p < 0,05$). На 44-му тижні життя різниця між 1- та 2- і 3-ю групами становила 4,04 і 7,17 % ($p < 0,05$), а на 68-му тижні — 2,13 і 4,26 %, проте вона не була статистично вірогідною для обох груп. Отже, більша фракція вапняку 2–3 мм, порівняно до фракції 1–2 мм, суттєвіше впливала на зростання вмісту холестеролу на 20-му тижні життя, меншим чином — на 44-му тижні, і ще меншою мірою — на 68-му тижні. Разом з тим, у середньому за дослід збільшення фракції вапняку до 1–2 мм не вплинуло на концентрацію холестеролу, тоді як згодовування вапняку фракції 2–3 мм збільшило концентрацію загального холестеролу плазми крові на 7,14 % ($p < 0,01$).

Таблиця 3.6

Вміст загального холестеролу в плазмі крові, ммоль/л ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1-2 мм	2-3 мм
20	2,16±0,06	2,19±0,13	2,36±0,08*
44	2,23±0,07	2,32±0,09	2,39±0,04*
68	2,35±0,05	2,40±0,08	2,45±0,07
Середнє	2,24±0,04	2,30±0,05	2,40±0,04**

На 44-й тиждень життя у сироватці крові курей зростала, порівняно з 20-м тижнем, концентрація 25-ОН гідроксильованої форми вітаміну D₃, а на 68-й тиждень концентрація вказаного вітаміну знижувалась до рівня 20-го тижня (табл. 3.7). Такі вікові зміни характерні для усіх трьох груп, незалежно від розміру частинок вапняку в раціоні. Зокрема, на 44-й тиждень життя вміст 25-ОН D₃ у сироватці крові курей 1-, 2- та 3-ї груп був на 17,92; 19,04 та

19,51 % більшим, ніж на 20-му тижні ($p < 0,01$). Встановлено також залежність концентрації 25-ОН вітаміну D₃ від розміру частинок вапняку в раціоні.

Таблиця 3.7

Вміст 25-ОН D₃ у сироватці крові, нг/мл (M±m, n=10)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1-2 мм	2-3 мм
20	17,39±0,50	18,42±0,40*	18,04±0,36
44	19,36±0,49	21,43±0,39**	21,70±0,25**
68	16,50±0,22	16,64±0,31	17,32±0,29*
Середнє	17,75±0,12	18,83±0,29**	19,02±0,15**

Кількість 25-ОН D₃ у сироватці крові курей 2- і 3-ї груп на 20-й тиждень була на 5,92 і 3,74 %, на 44-й тиждень — на 10,69 і 12,09 % ($p < 0,01$), а на 68-й тиждень — на 0,97 і 5,10 % ($p < 0,05$), ніж у курей 1-ї групи. Внаслідок цього, у середньому за дослід концентрація 25-ОН D₃ у сироватці крові курей 2-ї та 3-ї груп на 6,08 та 7,15 % перевищувала концентрацію 25-ОН D₃ у крові курей 1-ї групи ($p < 0,01$).

При збільшенні розміру частинок вапняку в раціоні, в сироватці крові зростала концентрація Кальцію (табл. 3.8), яка в середньому за період дослід у курей 2-ї групи була на 8,58 %, а у курей 3-ї групи — на 10,38 % більшою, ніж у курей 1-ї групи ($p < 0,01$).

Таблиця 3.8

Вміст загального Кальцію в сироватці крові, ммоль/л (M±m, n=10)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1-2 мм	2-3 мм
20	4,21±0,27	4,64±0,18	4,53±0,20
44	4,45±0,12	4,77±0,10*	5,01±0,15**
68	4,61±0,11	4,93±0,23	5,13±0,19*
Середнє	4,43±0,09	4,81±0,11**	4,89±0,09**

Такі зміни спостерігались протягом усього дослідження. Зокрема, зростання концентрації загального Кальцію у сироватці крові курей 2-ї і 3-ї груп порівняно з 1-ю групою на 20-му тижні життя становило 10,21 і 7,60 %, на 44-му тижні — 7,19 і 12,58 %, а на 68-му — 8,58 і 10,38 % ($p < 0,05-0,01$).

Концентрація іонізованого Кальцію у сироватці крові зростала більшою мірою, ніж концентрація загального Кальцію (табл. 3.9). Так, концентрація іонізованого Кальцію у сироватці крові курей 2-ї і 3-ї груп порівняно з 1-ю групою на 20-му тижні життя була більшою на 18,40 і 15,20 %, на 44-му тижні — 9,02 і 13,53 %, а на 68-му — 14,71 і 16,91 % ($p < 0,05-0,01$).

У середньому за дослід різниці становили 14,50 та 15,27 % ($p < 0,01$). Коливання концентрації загального Кальцію завжди пов'язані, головним чином, зі змінами концентрації іонізованого Кальцію, оскільки кількість зв'язаного Кальцію значно стабільніший показник. У нашому досліді, зростання концентрації у крові іонізованого Кальцію — бажана зміна, адже саме іонізовані Кальцій і карбонат засвоюються маткою птиці, де переводяться у аморфну форму карбонату кальцію, який на мембрані шкаралупи трансформується у кристалічну форму.

Таблиця 3.9

Вміст іонізованого Кальцію в сироватці крові, ммоль/л ($M \pm m, n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1-2 мм	2-3 мм
20	1,25±0,09	1,48±0,04*	1,44±0,05
44	1,33±0,05	1,45±0,06	1,51±0,07
68	1,36±0,08	1,56±0,03*	1,59±0,04*
Середнє	1,31±0,06	1,50±0,05*	1,51±0,05*

На концентрацію Фосфору розмір кормових частинок вапняку не вплинув, за винятком незначного зростання на 20-му тижні ($p < 0,05$) (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Вміст Фосфору в сироватці крові, ммоль/л ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1-2 мм	2-3 мм
20	1,95±0,04	2,05±0,05	2,10±0,07*
44	1,88±0,05	1,91±0,08	1,86±0,06
68	1,86±0,11	1,89±0,05	1,82±0,07
Середнє	1,89±0,03	1,95±0,04	1,93±0,04

З віком у сироватці крові курей зростало співвідношення Кальцію до Фосфору (табл. 3.11), що пов'язано зі збільшенням кількості Кальцію. На 68-му тижні життя, порівняно з 20-им тижнем, співвідношення Ca/P у сироватці крові курей 1-ї групи зросло на 17,43 % ($p < 0,05$), 2-ї групи — на 17,41 % ($p < 0,05$), а 3-ї — на 26,87 % ($p < 0,01$). Збільшення розміру фракції згодовуваного курям вапняку спричинило зростання співвідношення Ca/P на 44-му тижні життя ($p < 0,05-0,01$).

Таблиця 3.11

Співвідношення Ca/P в сироватці крові ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	2,18±0,11	2,24±0,12	2,27±0,12
44	2,38±0,10	2,53±0,11*	2,71±0,13**
68	2,56±0,18	2,63±0,16	2,88±0,20
Середнє	2,37±0,07	2,48±0,07	2,59±0,08*

У середньому за дослід співвідношення Кальцій/Фосфор статистично вірогідно зросло за збільшення розміру частинок вапняку з 0–1 до 2–3 мм ($p < 0,05$).

У цілому співвідношення Кальцію до Фосфору у нашому досліді в окремих групах перевищує норму, яка становить для курей-несучок 2,2–2,4, проте високий показник Ca/P часто зустрічається у високопродуктивних несучок.

На 44- та 68-му тижнях життя та у середньому за дослід у сироватці крові курей 2- та 3-ї груп зменшувалась, порівняно з сироваткою крові курей 1-ї групи концентрація Магнію ($p < 0,01$). При цьому, вплив на концентрацію Магнію частинок розміром 1–2 та 2–3 мм був приблизно однаковим (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Вміст Магнію в сироватці крові, ммоль/л ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1-2 мм	2-3 мм
20	0,74±0,02	0,76±0,04	0,74±0,04
44	0,83±0,02	0,74±0,04**	0,71±0,02**
68	0,81±0,03	0,70±0,02**	0,72±0,02**
Середнє	0,79±0,02	0,73±0,02**	0,73±0,01**

У плазмі крові курей 2-ї та 3-ї дослідних груп виявлено меншу, хоча й статистично не вірогідно, активність лужної фосфатази (табл. 3.13), проте такий ефект спостерігався лише на початку досліді, на 44- та 68-му тижнях показники вирівнялись.

Активність лужної фосфатази відображає ефективність перебігу процесів фосфорно-кальцієвого обміну. Цей показник належить до показників клінічного стану. Відсутність вірогідних різниць вказує на

відсутність метаболічних порушень в організмі курей усіх груп протягом дослідного періоду.

Таблиця 3.13

Активність лужної фосфатази в плазмі крові, Од/л ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	112,31±7,40	102,48±3,82	100,70±3,74
44	123,12±5,35	121,18±8,45	127,37±4,91
68	139,62±3,22	137,14±8,39	140,25±6,24
Середнє	127,99±2,03	120,27±2,86	122,77±2,04

3.1.2. Хімічний склад та морфометричні параметри яєць.

На початку досліду маса яйця курей усіх досліджуваних груп була приблизно однаковою (табл. 3.14). З віком вона поступово зростала, причому збільшення ваги яйця виражене більшою мірою у курей, які отримували вапняк з більшим розміром частинок. Наприкінці досліду розмір частинок також впливав на вагу яєць, проте цей вплив є меншим.

Найбільша маса яйця була у курей, яким згодовували вапняк з розміром частинок 2–3 мм, а найменшою — у курей, раціон яких містив вапняк з розміром частинок до 1мм.

На 20 і 24 тижні життя впливу розміру частинок вапняку на масу яйця не виявлено. З цього можна зробити висновок, що дефіциту Кальцію у цей період немає, або ж він незначний. У подальшому встановлено наступні зміни: на 28-му тижні життя маса яйця курей 2-ї та 3-ї груп на 2,10 і 6,10 % перевищувала вагу яйця курей 1-ї групи; на 32-му тижні маса яйця у курей цих груп різнилася на 2,13 і 6,85 %; на 40-му тижні — на -0,29 та 5,24 %; на 44-му тижні — на 3,99 і 6,48 %; на 48-му тижні — на 4,36 і 11,04 %; на 52-му тижні — на 4,90 і 8,57 %; на 56-му тижні — на 7,25 і 9,75%; на 60-му тижні

— на 6,64 і 10,73 %; на 64-му тижні — на 3,70 і 9,13 %; на 68-му тижні — на 3,19 і 4,84 %.

При збільшенні частинок вапняку з 0–1 до 1–2 мм вірогідних різниць у масі яєць не виявлено, тоді як порівняння вказаного показника у курей першої (0–1 мм) і третьої (2–3 мм) різниці були статистично вірогідними ($p < 0,05$). Отже, за згодовування курям вапняку розміром 1–2 мм, маса знесених ними яєць була у середньому на 3,09 % більшою ніж при використанні вапняку розміром до 1 мм. При порівнянні ваги яєць курей 1-ї та 3-ї груп, яким згодовували, відповідно, вапняк розміром до 1 та 2–3 мм, різниці були ще більшими і становили у середньому за період досліду 6,69 %.

Таблиця 3.14

Маса яйця, г ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	52,12±1,50	51,44±1,20	52,25±1,07
24	54,35±1,12	54,31±1,57	54,68±1,73
28	54,26±1,11	55,40±1,70	57,57±1,53
32	54,57±1,40	55,73±1,58	58,31±1,68
40	55,32±1,13	55,17±1,54	58,22±1,68
44	55,13±1,03	57,33±1,47	58,70±1,08*
48	54,82±1,07	57,21±1,06	60,87±1,75*
52	55,76±1,01	58,49±1,16	60,54±1,77*
56	56,28±1,62	60,36±1,74	61,77±1,17*
60	56,78±2,12	60,55±1,82	62,87±1,06*
64	57,31±1,01	59,43±1,73	62,54±1,74*
68	57,39±1,24	59,22±2,52	60,17±1,80
Середнє	55,34±1,28	57,05±1,59	59,04±1,50**

Найістотніші різниці виявлено у другий період яйцекладки, що закономірно, оскільки протягом яйцекладки в організмі курей поступово використовуються запаси Кальцію. Додавання до раціону крупних кормових частинок вапняку забезпечувало триваліше його перебування у травному каналі і, відповідно, ефективніше засвоєння Кальцію. Крім того, крупні частинки у м'язовому шлунку діють як додатковий абразивний чинник, чим сприяють кращому перетравленню корму в цілому.

Маса білка яєць збільшувалась з віком курей. Так, з 20 до 68 тижня життя маса яєчного білка у курей 1-ї групи зросла на 10,61 %, 2-ї групи — на 8,70 %, 3-ї групи — на 12,91 % (табл. 3.15).

Таблиця 3.15

Маса білка яєць, г ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	33,92±1,50	34,16±1,44	34,16±1,10
24	34,78±1,14	35,40±1,59	34,37±1,76
28	34,18±1,05	34,17±1,76	36,85±1,60
32	33,71±1,73	33,89±1,86	35,45±1,77
40	34,81±1,43	32,81±1,63	35,37±1,81
44	34,40±1,17	34,87±1,54	36,00±1,24
48	33,76±1,21	34,82±1,02	38,28±1,84*
52	34,68±0,99	36,43±1,32	37,31±1,94
56	34,69±1,46	38,36±1,88	38,90±0,87*
60	35,34±2,27	37,99±2,05	40,15±1,29
64	35,65±0,91	36,99±1,48	40,22±2,10*
68	37,52±1,36	38,11±2,29	38,56±1,84
Середнє	34,79±1,35	35,67±1,66	37,14±1,60

На 20-му тижні життя маса білка яйця курей 2-ї та 3-ї груп на 0,71 і 0,72 % перевищувала масу білка яйця курей 1-ї групи; на 48-му тижні — на 3,14 і 13,39 %; на 52-му тижні — на 5,05 і 7,58 %; на 56-му тижні — 10,58 і 12,14 %; на 60-му тижні — на 7,50 і 13,61 %; на 64-му тижні — на 3,46 і 12,82 %; на 68-му тижні — на 1,57 і 2,77 %.

На відміну від жовтка, маса білка яєць була менш стабільною і коливалась у ширших межах. Зокрема, при збільшенні розміру частинок вапняку з до 1 до 1–2 мм на змінювалась, або й зменшувалась з 24 по 44-й тижні життя курей, тоді як на 56 і 60 тижні спостерігалось значне її зростання. При збільшенні розміру частинок вапняку до 2–3 мм маса яєчного білка, порівняно з курми 1-ї групи, незначно змінювалась протягом 20–24 тижнів життя, після чого зростала, хоча на 40-й тиждень також відрізнялась незначно. Таким чином, хоча у середньому за період досліду маса білка яєць курей при збільшенні розміру частинок вапняку зростала, зміни цього показника були менш стабільними ніж у жовтка.

Маса жовтка яйця курей також зростала з віком (табл. 3.16). У яйцях курей 1-ї групи вона на 68-й тиждень життя була на 18,40 % більшою, ніж на 20-му тижні життя. Для яєць курей 2-ї та 3-ї груп вказана різниця становила 32,08 та 27,28 %. Збільшення з віком маса жовтка у цілому характерне для курей, важливо, що при згодовуванні крупніших частинок вапняку ці зміни є істотнішими.

У віці 20 та 24 тижні маса жовтка яєць 2-ї групи була меншою на 6,84 та 5,54 %, порівняно до яєць курей 1-ї групи. Маса жовтка яєць курей 3-ї групи на 20-й тиждень життя була такою ж як і 1-й групі, а на 24-й тиждень зросла на 4,37 %.

У подальшому, маса жовтка яєць у курей 2-ї та 3-ї груп була більшою ніж маса жовтка яєць курей 1-ї групи. Зокрема, на 28-му тижні життя маса жовтка яйця курей 2-ї та 3-ї груп на 7,03 і 4,40 % перевищувала вагу жовтка курей 1-ї групи; на 32-му тижні маса жовтка у курей цих груп різнилася на

5,48 і 12,51 %; на 40-му тижні — на 13,05 та 15,49 %; на 44-му тижні — на 8,30 і 10,05 %; на 48-му тижні — на 5,86 і 8,46 %; на 52-му тижні — на 5,39 і 13,22 %; на 56-му тижні — 0,52 і 6,69 %; на 60-му тижні — на 3,02 і 5,53 %; на 64-му тижні — на 0,95 і 2,29 %; на 68-му тижні — на 3,99 і 9,27 %.

Таблиця 3.16

Маса жовтка яєць, г ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	12,28±0,41	11,44±0,35	12,39±0,39
24	13,72±0,47	12,96±0,39	14,32±0,43
28	14,09±0,36	15,08±0,44	14,71±0,33
32	14,79±0,43	15,60±0,36	16,64±0,33**
40	14,33±0,53	16,20±0,40*	16,55±0,42**
44	14,82±0,44	16,05±0,55	16,31±0,33*
48	15,01±0,34	15,89±0,34	16,28±0,33*
52	14,83±0,30	15,63±0,40	16,79±0,30***
56	15,40±0,41	15,48±0,59	16,43±0,44
60	15,55±0,38	16,02±0,46	16,41±0,37
64	15,72±0,35	15,87±0,61	16,08±0,35
68	14,03±0,32	14,59±0,61	15,33±0,31**
Середнє	14,55±0,40	15,07±0,46	15,69±0,36*

У середньому, за період дослідження маса жовтка яєць курей, що отримували вапняк з розміром кормових частинок 1–2 мм та 2–3 мм була на 3,57 та 7,84 % більшою порівняно до жовтка яєць курей, яким згодовували вапняк розміром до 1 мм. Для курей 2-ї групи було характерним низька маса жовтка на початку яйцекладки, її зростання у 28–52 тижні життя з наступним зменшенням у 56–68 тижні. При використанні частинок вапняку розміром 2–3 мм зростання ваги жовтка було значнішим і більш стабільним.

Вміст білка у жовтку яєць зменшувався з віком курей, незалежно від розміру частинок вапняку (табл. 3.17). Від 20- до 68 тижня життя відносний вміст загального білка у жовтку яєць курей 1-ї групи знизився з 17,07 до 15,13 % ($p < 0,001$), 2-ї групи — з 16,39 до 15,22 % ($p < 0,01$), 3-ї групи — з 16,55 до 14,89 % ($p < 0,001$). Разом з тим, розмір частинок вапняку на вміст білка не вплинув. На усіх етапах дослідження він у курей всіх трьох дослідних груп був майже однаковим.

Таблиця 3.17

Вміст загального білка у жовтку яєць, % ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	17,07±0,25	16,39±0,33	16,55±0,28
24	16,29±0,31	16,67±0,27	16,34±0,22
28	15,53±0,23	15,93±0,39	15,63±0,19
32	15,66±0,15	15,26±0,24	15,70±0,24
40	15,72±0,42	16,08±0,25	15,91±0,26
44	15,10±0,24	15,37±0,30	15,58±0,20
48	14,91±0,22	15,12±0,15	14,82±0,21
52	15,50±0,19	15,30±0,35	15,24±0,24
56	15,10±0,29	15,70±0,21	15,61±0,18
60	15,34±0,18	15,51±0,17	15,73±0,27
64	14,76±0,21	15,06±0,26	15,26±0,25
68	15,13±0,23	15,22±0,29	14,89±0,21
Середнє	15,51±0,24	15,63±0,27	15,61±0,23

Відносний вміст загальних ліпідів у жовтку навпаки, збільшувався з віком (табл. 3.18). Від 20- до 68 тижня життя відносний вміст загальних ліпідів у жовтку яєць курей 1-ї групи збільшився з 31,16 до 33,11 %, 2-ї групи — з 31,67 до 33,39 %, 3-ї групи — з 31,35 до 33,93 % ($p < 0,01-0,001$).

На відміну від вмісту загального білка, вміст загальних ліпідів залежав від розміру частинок вапняку в раціоні. Лише на початку досліду, з 20- до 28-тижнів життя вміст загальних ліпідів у жовтку яєць курей різних груп не відрізнявся. Починаючи з 32-го тижня більший розмір частинок вапняку сприяв зростанню вмісту ліпідів. Ці різниці кількісно невеликі проте на окремих етапах досліду статистично вірогідні. Зокрема вірогідні зміни виявлено на 32, 60 та 64-му тижнях ($p < 0,051-0,001$). Разом з тим, у середньому за дослід значних відмінностей між групами не встановлено.

Таблиця 3.18

Вміст загальних ліпідів у жовтку яєць, % ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	31,16±0,18	31,67±0,25	31,35±0,18
24	31,99±0,23	31,21±0,23	31,90±0,20
28	32,71±0,15	32,16±0,22	32,23±0,22
32	32,55±0,20	33,53±0,31*	34,00±0,25***
40	32,46±0,27	32,99±0,22	33,64±0,19
44	33,09±0,28	33,09±0,23	33,49±0,19
48	33,32±0,22	33,08±0,25	33,91±0,20
52	32,73±0,22	32,80±0,17	34,09±0,17
56	33,11±0,32	33,70±0,21	33,75±0,18
60	32,91±0,20	33,29±0,28*	34,20±0,19***
64	33,47±0,24	33,63±0,25	34,20±0,18*
68	33,11±0,21	33,39±0,23	33,93±0,24
Середнє	32,72±0,23	32,88±0,24	33,39±0,20

Як видно з наведених у таблиці 19 результатів, зростання кількості загальних ліпідів у жовтку відбувалось за рахунок триацилгліцеролів,

відносний вміст яких збільшувався як у віковій динаміці, так і при збільшенні розміру фракції вапняку в раціоні, причому на 52-му та 60-му тижнях життя міжгрупові різниці статистично вірогідні ($p < 0,01$).

З 20- до 68 тижня життя відносний вміст триацилгліцеролів у жовтку яєць курей 1-ї групи зріс з 18,36 до 21,87 %, 2-ї групи — з 18,57 до 22,21 %, 3-ї групи — з 18,42 до 22,67 % ($p < 0,001$).

У середньому за дослід міжгрупові різниці вмісту триацилгліцеролів у жовтку не вірогідні, проте тенденція до збільшення спостерігається у 3-й групі.

Таблиця 3.19

Вміст триацилгліцеролів у жовтку яєць, % ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	18,36±0,25	18,57±0,39	18,42±0,29
24	18,57±0,33	18,21±0,44	19,11±0,34
28	20,05±0,11	19,64±0,25	19,69±0,41
32	20,47±0,28	20,77±0,51	21,45±0,37*
40	20,62±0,47	21,22±0,27	21,59±0,33
44	21,17±0,33	21,45±0,36	21,61±0,24
48	21,44±0,26	21,50±0,40	22,28±0,32
52	20,91±0,40	21,16±0,19	22,57±0,18**
56	21,39±0,61	22,05±0,22	22,36±0,26
60	21,44±0,34	21,98±0,43	22,89±0,30**
64	22,02±0,32	22,36±0,31	22,92±0,29
68	21,87±0,27	22,21±0,28	22,67±0,42
Середнє	20,69±0,33	20,93±0,34	21,46±0,31

Вміст загального холестеролу у жовтку зменшувався з віком (табл. 3.20), причому зміни виражені більшою мірою, ніж для триацилгліцеролів. Від 20- до 68 тижня життя відносний вміст холестеролу у жовтку яєць курей 1-ї групи знизився у 1,24, 2-ї групи — у 1,26, 3-ї групи — у 1,29 рази ($p < 0,001$).

Міжгрупові різниці вмісту холестеролу у жовтку статистично не вірогідні, проте 24- по 60-й тиждень життя виявлено тенденцію до зменшення його відсотка при збільшенні розміру частинок вапняку в раціоні. У середньому за дослід міжгрупові різниці статистично не вірогідні з тією ж тенденцією до зменшення.

Таблиця 3.20

Вміст холестеролу в жовтку яєць, % ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	2,52±0,11	2,49±0,15	2,57±0,10
24	2,73±0,14	2,45±0,09	2,52±0,07
28	2,60±0,09	2,40±0,17	2,43±0,05
32	2,55±0,15	2,37±0,14	2,40±0,12
40	2,43±0,07	2,30±0,16	2,34±0,08
44	2,30±0,18	2,31±0,11	2,25±0,09
48	2,35±0,17	2,22±0,15	2,18±0,10
52	2,37±0,10	2,23±0,17	2,20±0,05
56	2,21±0,14	2,15±0,10	2,09±0,13
60	2,14±0,13	2,09±0,19	2,03±0,06
64	2,04±0,17	2,02±0,14	2,05±0,04
68	2,02±0,05	1,98±0,16	2,01±0,11
Середнє	2,36±0,13	2,25±0,14	2,26±0,08

Вміст фосфоліпідів у жовтку зменшувався з віком (табл. 3.21). З 20- до 68 тижня життя відносний вміст фосфоліпідів у жовтку яєць курей 1-ї групи зменшився в 1,11, 2-ї групи — у 1,15, а 3-ї групи — у 1,12 разу ($p < 0,01 - 0,001$). Протягом дослідження на кожному віковому періоді різниць вмісту фосфоліпідів у жовтку курей різних груп не виявлено за винятком 32-го тижня життя, де він зріс при згодовуванні крупнішої фракції вапняку ($p < 0,05$).

Таблиця 3.21

Вміст фосфоліпідів у жовтку яєць, % ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	10,28±0,18	10,61±0,21	10,36±0,15
24	10,69±0,22	10,55±0,15	10,27±0,20
28	10,06±0,24	10,12±0,24	10,11±0,21
32	9,53±0,17	10,39±0,27*	10,15±0,25
40	9,41±0,28	9,47±0,22	9,71±0,17
44	9,62±0,33	9,33±0,23	9,63±0,24
48	9,53±0,24	9,36±0,20	9,45±0,19
52	9,45±0,15	9,41±0,14	9,32±0,27
56	9,51±0,20	9,50±0,30	9,30±0,15
60	9,33±0,13	9,22±0,23	9,28±0,17
64	9,41±0,24	9,25±0,29	9,23±0,20
68	9,22±0,31	9,20±0,24	9,25±0,18
Середнє	9,67±0,22	9,70±0,23	9,67±0,20

Отже, з віком у жовтку яєць курей зменшується вміст загального білка і зростає вміст загальних ліпідів. Збільшення вмісту загальних ліпідів відбувається за рахунок більшої кількості триацилгліцеролів, тоді як кількість фосфоліпідів та холестеролу зменшується. При збільшенні розміру

фракції вапняку у раціоні курей-несучок у складі жовтка їх яєць помірно збільшується вміст ліпідів внаслідок зростання кількості триацилгліцеролів.

Розмір частинок вапняку незначно вплинув на вміст Кальцію у жовтку яєць (табл. 3.22). Виявлено зростання його кількості у другу фазу яйцекладки, проте ці зміни статистично не вірогідні.

Таблиця 3.22

Вміст Кальцію в жовтку яєць, % ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	0,141±0,011	0,145±0,009	0,138±0,012
24	0,143±0,019	0,140±0,007	0,145±0,007
28	0,152±0,005	0,155±0,012	0,150±0,004
32	0,160±0,007	0,158±0,008	0,162±0,005
40	0,173±0,009	0,167±0,011	0,170±0,007
44	0,168±0,012	0,170±0,012	0,180±0,010
48	0,165±0,009	0,182±0,005	0,185±0,012
52	0,154±0,013	0,172±0,006	0,181±0,006
56	0,157±0,011	0,159±0,008	0,172±0,005
60	0,148±0,007	0,149±0,014	0,160±0,008
64	0,142±0,015	0,145±0,012	0,158±0,014
68	0,145±0,010	0,152±0,007	0,140±0,009
Середнє	0,154±0,010	0,158±0,008	0,162±0,009

Зміни вмісту Фосфору у жовтку яєць корелювали зі змінами вмісту Кальцію. Вміст цього елемента помірно, але не вірогідно зростав у другу фазу яйцекладки у жовтку курей, які отримували вапняк фракції 1-2 та 2-3 мм, порівняно з жовтком курей, які отримували вапняк розміром менше 1 мм. разом з тим усі виявлені різниці не були статистично вірогідними (табл. 3.23).

Таблиця 3.23

Вміст Фосфору в жовтку яєць, % (M±m, n=10)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	0,621±0,032	0,612±0,020	0,610±0,017
24	0,599±0,021	0,601±0,023	0,605±0,029
28	0,612±0,019	0,622±0,019	0,609±0,027
32	0,628±0,029	0,640±0,030	0,621±0,032
40	0,651±0,030	0,643±0,025	0,630±0,028
44	0,644±0,017	0,658±0,029	0,649±0,025
48	0,605±0,024	0,630±0,022	0,652±0,027
52	0,618±0,022	0,637±0,026	0,647±0,024
56	0,632±0,037	0,640±0,021	0,653±0,017
60	0,617±0,023	0,621±0,033	0,630±0,030
64	0,624±0,030	0,628±0,019	0,637±0,018
68	0,611±0,037	0,619±0,028	0,632±0,024
Середнє	0,621±0,024	0,629±0,027	0,631±0,023

Маса шкаралупи яєць курей, які отримували вапняк з розміром кормових частинок до 1мм не змінювалась з віком (табл. 3.24). Натомість, шкаралупи яєць курей, яким згодовували крупнішу фракцію вапняку, наприкінці досліду була більшою. Маса шкаралупи у групах, що отримували вапняк розміром 1–2 та 2–3 мм протягом досліду зроста на 5,16 і 3,49 %, тобто вірогідної різниці між 2-ю та 3-ю групами не спостерігалось.

На початку досліду різниці ваги шкаралупи між групами не виявлено, тобто у курей 2-ї та 3-ї групи вона була меншою, але не вірогідною. З 24 тижня життя маса шкаралупи курей 2-ї та 3-ї груп почала збільшуватись відносно ваги шкаралупи яєць курей 1-ї групи. До 40 тижня життя ці різниці

були відносно незначними. Починаючи з 44 тижня маса шкаралупи курей 2-ї та 3-ї групи істотно зростає і перевищувала показник курей 1-ї групи на 3–12%.

На 20-му тижні життя маса шкаралупи яйця курей 2-ї та 3-ї груп була на 1,52 і 3,88 % меншою за вагу шкаралупи яєць у курей 1-ї групи; на 24 тижні вона почала перевищувати вагу шкаралупи яєць курей 1-ї групи, різниця становила 1,71 і 2,39 %; на 28-му тижні шкаралупа була важчою на 2,67 і 0,33 %, на 32-му тижні маса шкаралупи різнилася на 2,80 і 2,47 %; на 40-му тижні — на 0,48 та 1,78 %; на 44-му тижні — на 8,46 і 8,12 % ($p < 0,05$); на 48-му тижні — на 7,62 і 4,47 %; на 52-му тижні — на 2,88 і 3,20 %; на 56-му тижні — 5,50 і 4,37 %; на 60-му тижні — на 11,04 і 7,13 % ($p < 0,01$); на 64-му тижні — на 10,61 і 5,05 %; на 68-му тижні — на 11,45 і 7,35 % ($p < 0,05$).

Таблиця 3.24

Маса шкаралупи яєць, г ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	5,93±0,22	5,84±0,38	5,70±0,18
24	5,85±0,13	5,95±0,12	5,99±0,25
28	5,99±0,22	6,15±0,13	6,01±0,13
32	6,07±0,26	6,24±0,16	6,22±0,20
40	6,19±0,15	6,16±0,20	6,30±0,17
44	5,91±0,12	6,41±0,18*	6,39±0,21*
48	6,04±0,22	6,50±0,16	6,31±0,17
52	6,25±0,09	6,43±0,16	6,45±0,14
56	6,18±0,32	6,52±0,14	6,45±0,23
60	5,89±0,15	6,54±0,15**	6,31±0,18
64	5,94±0,27	6,57±0,21	6,24±0,15
68	5,85±0,13	6,52±0,25*	6,28±0,16*
Середнє	6,01±0,19	6,32±0,19*	6,22±0,18*

У середньому за період дослідження маса шкаралупи яєць курей 2-ї та 3-ї груп перевищувала відповідний показник курей 1-ї групи на 5,16 і 3,49 % ($p < 0,05$). Отже, ваги шкаралупи за згодовування курям вапняку розміром 2–3 мм була навіть меншою, ніж за згодовування вапняку розміром 1–2 мм, хоча обидва показники більші, ніж у курей яким згодовували вапняк розміром 1 мм. Зростання ваги шкаралупи з віком — нормальний фізіологічний процес, тому відсутність таких змін у курей 1-ї групи свідчить про дефіцит Кальцію в організмі.

Як видно з наведених у таблиці 25 даних, вміст Кальцію у шкаралупі яєць курей усіх груп дещо збільшувався з віком.

Таблиця 3.25

Вміст Кальцію в шкаралупі яєць, мг/г ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	363,81±7,39	360,78±4,97	359,44±6,38
24	358,25±4,32	361,79±3,70	354,22±5,36
28	355,08±4,99	352,80±4,90	360,99±6,19
32	362,02±3,58	364,26±3,41	365,12±7,53
40	359,41±4,13	360,71±3,06	364,08±6,09
44	366,78±3,51	365,19±5,97	372,57±4,96
48	371,46±3,32	366,92±4,38	374,43±5,12
52	374,22±3,73	370,32±7,34	376,16±4,78
56	376,19±7,99	371,38±4,77	379,89±5,50
60	374,80±3,42	376,18±8,24	385,23±6,14
64	371,47±3,26	373,60±11,77	382,41±5,15
68	368,55±6,04	371,05±4,86	385,16±8,59
Середнє	366,84±4,31	365,92±4,72	371,64±5,07

Більшою мірою ці зміни виражені у курей 3-ї групи, які споживали корм, який містив вапняк з розміром частинок 2–3 мм. Вміст Кальцію у шкаралупі яєць курей цієї групи наприкінці досліду був на 7,15 % більший, ніж на початку ($p < 0,05$). Особливістю змін вмісту Кальцію було те, що у шкаралупі курей 1-ї та 2-ї груп від зростав до середини досліду, після чого вирівнювався, а у курей 3-ї групи поступове зростання вмісту Кальцію у шкаралупі спостерігалось протягом усього дослідного періоду. Разом з тим, у середньому за період досліду вміст Кальцію у шкаралупі курей усіх трьох груп різнився незначно, що дозволяє зробити висновок, про відсутність суттєвого впливу розміру згодовуваних курям частинок вапняку на відкладення у шкаралупі яєць Кальцію.

Вміст Фосфору в шкаралупі яєць більшою мірою залежав від розміру частинок вапняку (табл. 3.26). Наприкінці досліду, порівняно з його початком, шкаралупа яєць курей 1-ї групи містила на 7,41 % ($p < 0,05$), 2-ї групи — на 12,15 % ($p < 0,05$), а 3-ї групи — на 16,67 % більше Фосфору ($p < 0,01$). Отже, хоча збільшення вмісту Фосфору в шкаралупі з віком характерне для курей-несучок, при згодовуванні крупнішої фракції вапняку ця властивість виражена більше.

На 20-й і 24-й тижні життя істотного впливу розміру частинок вапняку на вміст Фосфору в шкаралупі яєць не виявлено. У подальшому встановлено наступні зміни: на 28-му тижні життя вміст Фосфору в шкаралупі яєць курей 3-ї групи на 2,75 % перевищував вміст Фосфору в шкаралупі яєць курей 1-ї групи, тоді як у 2-й групі змін не виявлено, на 32-му тижні зміни у шкаралупі яєць курей 2-ї та 3-ї груп були однаковими, вміст Фосфору перевищував показник курей 1-ї групи на 2,70 %; на 40-му тижні вміст Фосфору в шкаралупі яєць курей 2-ї та 3-ї груп був більшим ніж у курей 1-ї групи на 3,57 та 4,46 %; на 44-му тижні — на 3,60 і 6,30 %; на 48-му тижні — на 3,53 і 4,42 %; на 52-му тижні — на 2,63 і 5,26 %; на 56-му тижні — на 2,61 і 6,09%;

на 60-му тижні — на 4,39 і 10,53 % ($p < 0,05$); на 64-му тижні — на 3,48 і 10,43 % ($p < 0,01$); на 68-му тижні — на 3,45 і 8,62 % ($p < 0,05$).

У середньому за період дослідження вміст Фосфору в шкаралупі яєць курей 2-ї та 3-ї груп був на 2,68 та 5,36 % більшим, ніж у шкаралупі яєць курей 1-ї групи ($p < 0,05$).

Таблиця 3.26

Вміст Фосфору в шкаралупі яєць, мг/г ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	1,08±0,039	1,07±0,018	1,08±0,027
24	1,10±0,030	1,07±0,016	1,10±0,020
28	1,09±0,042	1,10±0,033	1,10±0,037
32	1,11±0,031	1,12±0,026	1,14±0,033
40	1,12±0,043	1,16±0,035	1,17±0,035
44	1,11±0,054	1,15±0,024	1,18±0,022
48	1,13±0,044	1,17±0,026	1,18±0,018
52	1,14±0,031	1,17±0,030	1,20±0,019
56	1,15±0,045	1,18±0,058	1,22±0,021
60	1,14±0,055	1,19±0,037	1,26±0,015*
64	1,15±0,032	1,19±0,035	1,27±0,015**
68	1,16±0,035	1,20±0,023	1,26±0,026*
Середнє	1,12±0,012	1,15±0,006*	1,18±0,006*

Вміст Магнію у шкаралупі яєць курей-несучок 1-ї групи зростає із віком (табл. 3.27). З 20-ти до 68-ти тижневого віку він збільшився на 6,65 % ($p < 0,05$). Натомість вміст Магнію у шкаралупі яєць курей 2-ї групи змінився значно менше, його збільшення протягом дослідження становило лише 1,20 %. У яйцях курей 3-ї групи вміст магнію у шкаралупі протягом дослідження залишався незмінним. Внаслідок цього, у середньому за період дослідження вміст

Магнію у шкаралупі яєць курей 2-ї та 3-ї груп був на 2,65 та 3,83 % меншим, ніж у курей 1-ї групи.

Таблиця 3.27

Вміст Магнію в шкаралупі яєць, мг/г ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	3,31±0,113	3,33±0,080	3,29±0,155
24	3,30±0,094	3,19±0,149	3,28±0,137
28	3,35±0,133	3,20±0,124	3,29±0,033
32	3,28±0,090	3,21±0,118	3,25±0,055
40	3,32±0,094	3,27±0,141	3,25±0,094
44	3,34±0,128	3,32±0,063	3,27±0,099
48	3,40±0,061	3,30±0,167	3,29±0,080
52	3,45±0,101	3,32±0,142	3,27±0,063
56	3,42±0,071	3,38±0,146	3,25±0,143
60	3,45±0,117	3,33±0,139	3,24±0,084
64	3,50±0,116	3,41±0,095	3,20±0,054*
68	3,53±0,066	3,36±0,105	3,25±0,093*
Середнє	3,39±0,031	3,30±0,041	3,26±0,02*

На 20-й тиждень життя вміст Магнію у шкаралупі курей 2-ї групи не відрізнявся від відповідного показника курей 1-ї групи, а у курей 3-ї групи він був меншим 1,51 %. У подальшому, протягом усього дослідження вміст Магнію у шкаралупі курей 2-ї та 3-ї груп був меншим, ніж у курей 1-ї групи. Так, на 24-му тижні життя шкаралупа яєць курей 2-ї та 3-ї груп, порівняно до 1-ї групи містила менше Магнію на 3,33 і 0,64 %; на 28-й тиждень — на 4,48 та 1,79 %; на 32-й тиждень — на 2,13 і 0,91 %, на 40-й тиждень — на 1,81 і 2,11 %; на 44-й тиждень — на 0,60 та 2,10 %; на 48-й тиждень — на 2,94 та 3,24 %; на 52-й тиждень — на 3,77 та 5,22 %; на 56-й тиждень — на 1,17 та

4,97 %; на 60-й тиждень — на 3,48 та 6,09 %; на 64-й тиждень — на 2,57 та 8,56 % ($p < 0,05$); на 68-й тиждень — на 4,82 та 7,93 % ($p < 0,05$).

Зменшення товщини шкаралупи з віком характерне для курей, питання лише у тому, наскільки інтенсивно відбувається цей процес. Товщина шкаралупи яєць курей усіх груп з віком зменшувалась, причому різниці більш виражені у курей, які отримували вапняк дрібнішої фракції (табл. 3.28). При згодовуванні курям вапняку з розміром частинок до 1 мм товщина шкаралупи яєць з 20 до 68 тижнів життя зменшилась на 13,42 %.

Таблиця 3.28

Товщина шкаралупи яєць, мм ($M \pm m$, $n=10$)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	0,364±0,020	0,349±0,024	0,354±0,026
24	0,356±0,012	0,347±0,023	0,371±0,014
28	0,352±0,008	0,362±0,020	0,363±0,016
32	0,347±0,008	0,368±0,016	0,380±0,009*
40	0,355±0,008	0,356±0,012	0,365±0,005
44	0,343±0,009	0,356±0,025	0,373±0,004**
48	0,329±0,012	0,361±0,020	0,374±0,003**
52	0,341±0,015	0,358±0,020	0,359±0,003
56	0,334±0,014	0,354±0,018	0,353±0,010
60	0,308±0,012	0,339±0,023	0,342±0,013
64	0,308±0,008	0,332±0,006*	0,349±0,011**
68	0,306±0,009	0,329±0,023	0,342±0,013*
Середнє	0,337±0,011	0,351±0,019*	0,360±0,011**

У курей, яким згодовували вапняк розміром 1–2 мм товщини шкаралупи зменшилась на 4,84 %, а за розміру частинок вапняку 2–3 мм — на 3,39 %. Таким чином, збільшення розміру частинок вапняку суттєво

вплинуло на збереження товщини шкарлупи, попереджуючи її стоншення. У результаті цього, в середньому за період дослідження товщина шкарлупи курей 2-ї та 3-ї груп була на 4,15 і 6,82 % ($p < 0,01$) більшою, ніж у курей 1-ї групи.

На 20- та 24-му тижнях життя товщина шкарлупи яйця курей 2-ї групи була на 4,12 і 2,75 % меншою за товщину шкарлупи яєць у курей 1-ї групи, а з 28 тижня вона почала зростати. У курей 3-ї групи товщина шкарлупи була меншою ніж у курей 1-ї групи лише на 20-й тиждень життя, після чого вона протягом усього дослідження перевищувала відповідний показник курей 1-ї групи.

На 28-му тижні товщина шкарлупи яєць курей 2-ї та 3-ї груп перевищувала товщину шкарлупи яєць курей 1-ї групи на 2,84 і 3,13 %; на 32-му тижні товщина шкарлупи різнилася на 6,05 і 9,51 % ($p < 0,05$); на 40-му тижні — на 0,28 та 2,82 %; на 44-му тижні — на 3,79 і 8,75 % ($p < 0,01$); на 48-му тижні — на 9,73 і 13,68 % ($p < 0,01$); на 52-му тижні — на 4,99 і 5,28 %; на 56-му тижні — 5,99 і 5,69 %; на 60-му тижні — на 10,06 і 11,04 %; на 64-му тижні — на 7,79 і 13,31 % ($p < 0,01$); на 68-му тижні — на 7,52 і 11,76 % ($p < 0,05$).

Міцність шкарлупи — важливий технологічний показник, від якого залежить збереженість яєць. Як правило, шкарлупа яєць з віком стає менш міцною, що збільшує відхід яєчної продукції. У нашому дослідженні найістотніше міцність шкарлупи знижувалась у курей 1-ї групи, які отримували вапняк з розміром частинок до 1 мм, де вона протягом з 20 до 68 тижнів життя стала меншою на 19,4 %. Шкарлупа яєць курей 2-ї та 3-ї груп (вапняк розміром 1-2 та 2-3 мм) за цей період стала менш міцною на 14,52 та 12,01 %, тобто збільшення розміру частинок вапняку в раціоні курей сприяло істотному збереженню міцності шкарлупи яєць.

На 20-му тижні життя міцність шкарлупи яйця курей 2-ї та 3-ї груп була на 1,84 і 0,46 % меншою за міцність шкарлупи яєць у курей 1-ї групи. На 24-му тижні меншою ніж у 1-ї групі була лише міцність шкарлупи курей

2-ї групи, а у 3-й групі шкаралупа яєць стала міцнішою. З 28 тижня життя міцність шкаралупи яєць у курей усіх дослідних груп вирівнялась. У курей 2-ї групи різниця у міцності шкаралупи залишалась однаковою й на 32-му тижні життя, а у курей 3-ї групи у цей віковий період вона стала більшою на 5,41 %. На 40-му тижні вона у курей 2-ї та 3-ї груп перевищувала міцність шкаралупи яєць курей 1-ї групи на 0,97 і 6,81 %; на 44-му тижні — на 5,93 і 3,92 % ($p < 0,05$); на 48-му тижні — на 3,06 і 10,71 % ($p < 0,05$).

Таблиця 3.29

Міцність шкаралупи яєць, кг/см² (M±m, n=10)

Вік курей, тижні	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
20	4,33±0,11	4,27±0,18	4,34±0,15
24	4,52±0,02	4,40±0,25	4,58±0,14
28	4,33±0,06	4,37±0,26	4,36±0,16
32	4,26±0,11	4,25±0,14	4,49±0,10
40	4,11±0,04	4,15±0,20	4,40±0,12
44	3,88±0,17	4,11±0,25	4,42±0,20*
48	3,92±0,15	4,04±0,21	4,34±0,14*
52	4,01±0,09	3,90±0,10	4,27±0,18
56	3,87±0,03	3,87±0,14	4,01±0,08
60	3,68±0,05	3,69±0,14	3,81±0,16
64	3,41±0,04	3,72±0,13*	3,92±0,14**
68	3,49±0,17	3,65±0,11	3,82±0,07
Середнє	3,99±0,08	4,04±0,11	4,23±0,06*

З 52- до 60-го тижневого віку міцність шкаралупи яєць курей 2-ї групи не відрізнялась від відповідного показника курей 1-ї групи, після чого на 64 і 68 тижень знову зросла відносно 1-ї групи на 9,41 та 4,89 %. У 3-й групі такого тимчасового зменшення не відбувалось. Міцність шкаралупи яєць цієї групи була більшою за міцність шкаралупи курей 1-ї групи протягом всього

досліді, в тому числі й у період з 52 до 60-го тижнів життя. Так, на 52-му тижні різниця становила 6,48 %; на 56-му тижні — 3,62 %; на 60-му тижні — 3,53 %; на 64-му тижні 15,29 %; на 68-му тижні — на 9,48 %.

Таким чином, збільшення розміру частинок вапняку у раціоні курей несучок підвищує міцність шкаралупи яєць, проте за розміру частинок 1-2 мм результат недостатньо стабільний, тоді як згодовування курям вапняку з розміром частинок 2-3 мм забезпечує більшу міцність шкаралупи протягом усього періоду яєчної продуктивності.

Таблиця 3.30

Несучість курей за період 18-72 тижнів (n=50)

Показники несучості	Розмір частинок вапняку		
	до 1мм	1–2 мм	2–3 мм
%	80,57±3,03	83,00±3,12	86,43±3,24
Кількість, шт	304,56±0,44	313,74±0,42	326,70±0,45

Зі збільшенням розміру фракції згодовуваного курям вапняку зростала їх яєчна продуктивність (табл. 3.30). Так, у середньому, порівняно до групи, що отримувала вапняк з розміром частинок до 1 мм, від курей 2-ї (вапняк фракції 1–2 мм) та 3-ї (вапняк фракції 1–2 мм) груп одержано на 3,01 і 7,27 % більше яєць.

Заключення.

Кальцій — один з найважливіших мінеральних елементів для курей-несучок. Крім своїх основних біологічних функцій, які полягають у формуванні основи кісткової тканини та участі в підтриманні кислотно-лужного балансу, у курей він є головним компонентом яєчної шкаралупи. При введенні до раціону курей-несучок вапняку як джерела Кальцію, слід враховувати розмір його частинок. Птиця ефективніше засвоює Кальцій, якщо його згодовують у складі крупних частинок, оскільки триваліше

перебування сполук Кальцію у шлунку птиці сприяє кращому його всмоктуванню у кишечнику. Кращі продуктивні показники можна отримати використовуючи вапняк фракції 2–3 мм.

При збільшенні розміру частинок вапняку у плазмі крові зростала концентрація Кальцію, яка у курей 2-ї групи була на 12 %, а у курей 3-ї групи — на 7 % більшою, ніж у курей 1-ї групи. У плазмі крові курей 2-ї групи на 15 % зросла концентрація Магнію, тоді як за збільшення частинок до 3мм вміст Магнію у плазмі крові був таким же, як у курей 1-ї групи. На концентрацію Фосфору розмір кормових частинок вапняку не вплинув. У плазмі крові курей 2-ї та 3-ї дослідних груп виявлено меншу активність лужної фосфатази. При збільшенні розміру частинок вапняку у плазмі крові курей зростала концентрація 25-ОН метаболіту вітаміну D₃. Порівняно з 1-ю групою, у курей 2-ї групи концентрація 25-ОН D₃ збільшилась на 6 %, а у курей 3-ї групи — на 4 %. Встановлено вплив розміру частинок вапняку на концентрацію холестеролу у плазмі крові. Так, за згодовування курям вапняку фракції 3 мм, вміст естерів холестеролу був на 6-9 % більшим, ніж у курей 1-ї та 2-ї груп. На вміст загального білка, сечової кислоти, глюкози, загальних ліпідів, триацилгліцеролів та вільного холестеролу розмір частинок вапняку не вплинув.

Збільшення розміру часток вапняку у раціоні курей збільшило вагу яйця. Зокрема, середня маса яєць, отриманих від курей 2-ї групи була на 3,26 %, а маса яєць, отриманих від курей 3-ї групи на 6,72 % більшою, порівняно до ваги яєць курей 1-ї групи. Це відбувалось за рахунок більшої маси білка та шкаралупи, тоді як маса жовтка залишалась без змін. Одночасно зростала міцність шкаралупи, яка у курей 1-ї, 2-ї та 3-ї груп становила, відповідно, 3,98; 4,04 та 4,23 кг/см².

Результати досліджень висвітлено у наступних публікаціях [9, 10, 15, 16, 17, 23].

3.2. Вплив введення до раціону курей несучок 1250, 2500, 3750 МО/кг вітаміну D₃ на обмін речовин та склад яєць

3.2.1. Метаболічний профіль крові курей-несучок. Збільшення вмісту вітаміну D₃ з 1250 до 3750 МО/кг корму дозозалежно підвищувало концентрацію 25-гідроксивітаміну D₃ у сироватці крові (табл. 3.31). Зокрема, у сироватці крові курей, що отримували вітаміну D₃ у кількості 2500 та 3750 МО/кг корму містилося у півтора і два рази більше 25-гідроксивітаміну D₃, ніж у курей, комбікорм яких містив 1250 МО вітаміну D₃ на 1 кг ($p < 0,001$).

У крові також зростав вміст Кальцію, обмін якого пов'язаний з вітаміном D.

Крім того, нами виявлено зміни концентрації загального холестеролу та триацилгліцеролів. Зростання концентрації триацилгліцеролів характерне для дії вітаміну D₃, воно пов'язане з стимулюванням синтезу ліпідів, що видно зі збільшення загального вмісту ліпідів.

З літератури відомо, що вітамін D₃ знижує концентрацію холестеролу. Це пояснюється тим, що холестерол є попередником вітаміну D₃, тому синтез холестеролу пригнічується за принципом блокування продуктом. Проте, ми виявили такий ефект лише при збільшенні вмісту вітаміну у 2-й групі. У подальшому концентрація холестеролу залишалась незмінною.

Такі відмінності можуть бути наслідком подальшого метаболізму 25-ОН D₃ та його перетворення у активну форму 1,25-(ОН)₂ D₃ (кальцитріол). Оскільки потреба організму в кальцитріолі визначається не надходженням попередників, а метаболічним станом клітин, збільшення кількості вітаміну D₃ в раціоні призводить до депонування у крові неактивного попередника 25-ОН D₃, який у подальшому поступово використовується клітинами. Виняток становлять клітини імунної системи (макрофаги, дендритні клітини), у яких відсутні механізми інгібування синтезу кальцитріолу, що призводить до його накопичення.

Таблиця 3.31

Біохімічні показники крові (M±m; n=10)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
Загальний білок, г/л	52,73±2,05	51,20±1,77	53,45±1,29
Глюкоза ммоль/л	4,42±0,19	4,49±0,25	4,52±0,28
Загальні ліпіди, г/л	21,78±1,35	24,31±1,78	26,79±1,12*
Триацилгліцероли, ммоль/л	0,52±0,04	0,65±0,06*	0,74±0,07*
НЕЖК, ммоль/л	0,28±0,03	0,32±0,04	0,35±0,03
Холестерол, ммоль/л	2,72±0,10	2,37±0,07*	2,32±0,09**
Загальний Кальцій, ммоль/л	4,18±0,12	4,37±0,15	4,52±0,13*
Іоніз. Кальцій, ммоль/л	1,27±0,08	1,25±0,06	1,33±0,05
Фосфор, ммоль/л	1,85±0,08	1,83±0,05	1,87±0,11
Магній, ммоль/л	0,69±0,03	0,65±0,02	0,64±0,04
Ca/P	2,26±0,13	2,39±0,15	2,42±0,07
25-ОН D ₃ , нг/мл	10,53±0,40	14,87±0,57***	20,34±0,82***
Лужна фосфатаза, Од./л	133,21±4,32	138,61±5,69	125,75±6,11

Збільшення вмісту вітаміну D у раціоні курей знижувало концентрацію продуктів пероксидного окиснення а крові. При цьому, активність антиоксидантних ензимів не зростала (табл. 3.32). Отже, дія вітаміну проявлялась не через активацію антиоксидантного захисту, а шляхом пригнічення утворення активних форм кисню.

Разом з цим, у плазмі крові курей-несучок другої, і особливо третьої груп, виявлено значно меншу концентрацію всіх досліджуваних продуктів пероксидного окиснення ліпідів — дієнових кон'югатів, гідроперекисів ліпідів, ТБК-продуктів ($p < 0,05 - 0,001$), порівняно до їх вмісту у плазмі крові курей першої групи. З цих даних випливає, що при дефіциті вітаміну D₃ в раціоні курей-несучок в їхньому організмі посилюються пероксидні процеси.

Ці дані становлять інтерес у зв'язку з відсутністю суттєвих міжгрупових різниць в активності всіх антиоксидантних ферментів в еритроцитах крові досліджуваних курей-несучок ($p < 0,05$). З них випливає, що найбільш вірогідною причиною зменшення концентрації продуктів ПОЛ у плазмі крові курей-несучок при підвищенні рівня вітаміну D₃ в раціоні є не висока активність антиоксидантної системи в їхньому організмі, а зменшення утворення активних форм кисню, які ініціюють вільнорадикальні процеси в організмі тварин і птиці.

Таблиця 3.32

**Показники антиоксидантного стану плазми крові курей-несучок
(M±m; n=10)**

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
Дієнові конюгати, ммоль/л	9,74±1,03	7,99±0,48	6,87±0,78
Гідроперекиси ліпідів, од.Σ ₄₅₀ /мл	6,05±0,31	3,78±0,24**	3,04±0,15***
ТБК-продукти, нмоль/мл	12,1±0,80	10,4±0,95	7,30±0,58*
Супероксиддисмутаза, ммоль/хв·г білка	2,53±0,35	2,63±0,66	2,61±0,20
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH/хв·г білка	61,5±3,43	65,2±4,82	72,1±5,14
Каталаза, H ₂ O ₂ ммоль/хв·г білка	5,03±0,30	5,72±0,40	5,65±0,48

Загалом, одержані результати свідчать про різнобічний вплив вітаміну D₃ при змінах його рівня в раціоні курей-несучок на обмінні та вільнорадикальні процеси в їхньому організмі.

3.2.2. Гематологічні показники курей-несучок

При дослідженні гематологічних показників (табл. 3.33) встановлено, що збільшення дози від 1250 до 3750 МО/кг не впливає на кількість еритроцитів

і концентрацію гемоглобіну. У той час кількість лейкоцитів зменшувалась за дози 3750 МО/кг ($p < 0,05$).

Таблиця 3.33

Гематологічні показники курей ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
Еритроцити, Т/л	3,15±0,21	3,11±0,19	3,23±0,11
Гемоглобін, г/л	109,37±7,26	107,51±6,88	112,44±7,53
Лейкоцити, Г/л	35,18±1,17	36,21±1,91	31,15±1,22*

При введенні до раціону 3750 МО/кг вітаміну D спостерігалось помірне, але статистично вірогідне збільшення відсотка моноцитів ($p < 0,05$) — клітин крові, які відповідають за неспецифічний імунітет. Частка іншого важливого чинника неспецифічного імунітету — нейтрофілів при підвищенні дози вітаміну до 2500 вона зменшилась ($p < 0,05$).

Таблиця 3.34

Лейкоцитарна формула, % ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
Лімфоцити	58,52±1,98	61,08±1,37	55,17±1,33
Нейтрофіли	27,66±1,05	25,13±0,52*	30,27±0,82
Моноцити	5,11±0,25	5,20±0,30	5,92±0,29*
Базофіли	2,35±0,19	2,44±0,15	2,59±0,14
Еозинофіли	6,36±0,37	6,15±0,29	6,05±0,22

За додавання до раціону 3750 МО/кг вітаміну D зростала фагоцитарна активність крові, що узгоджується з більшою кількістю задіяних у фагоцитозі клітин: нейтрофілів та попередників макрофагів — моноцитів (табл. 3.35).

Таблиця 3.35

Показники неспецифічної резистентності, % (M±m, n=10)

Показники	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
Бактерицидна акт.	55,39±1,28	51,67±1,36	58,62±1,82
Лізоцимна акт.	25,34±1,44	28,31±2,05	23,51±1,28
Фагоцитарна акт.	23,62±0,76	24,25±2,01	31,50±1,83***

3.2.3. Жирнокислотний склад та антиоксидантний стан органів і тканин курей несучок. З наведених у таблицях 3.36 і 3.37 даних видно, що рівень вітаміну D₃ у раціоні курей-несучок значно впливає на жирнокислотний склад загальних ліпідів печінки і яйцепроводу.

Зокрема, у загальних ліпідах печінки курей-несучок третьої групи виявлено менший вміст лінолевої (p<0,05) і арахідонової (p<0,05) та більший відносний вміст олеїнової (p<0,01) кислот, ніж у ліпідах курей-несучок першої та другої груп.

Причиною цих різниць можуть бути різниці у відносному вмісті фосфоліпідів і етерифікованого холестеролу в печінці курей-несучок третьої групи, порівняно до їхнього вмісту в печінці курей-несучок другої групи.

Ці класи ліпідів, особливо окремі підкласи фосфоліпідів значно розрізняються за вмістом насичених і мононенасичених жирних кислот у тканинах тварин. Крім того, у складі ліпідів печінки курей 3-ї групи зменшився вміст лауринової (p<0,001), міристинової (p<0,05), ейкозациденової (p<0,01) та докозатетраєнової (p<0,01), тоді як кількість пальмітинової кислоти зросла (p<0,05).

Внаслідок цього, у ліпідах печінки курей 3-ї групи виявлено більше насичених і мононенасичених та менше поліненасичених жирних кислот (p<0,01).

Таблиця 3.36

**Жирнокислотний склад загальних ліпідів печінки курей-несучок
за різного рівня вітаміну D₃ в раціоні (M±m; n=5)**

Код жирної кислоти	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
8:0	0,25±0,003	0,028±0,002	0,022±0,006
10:0	0,07±0,002	0,068±0,005	0,065±0,006
12:0	0,17±0,005	0,17±0,008	0,11±0,008***
14:0	0,32±0,008	0,32±0,01	0,26±0,02*
15:0	0,10±0,005	0,105±0,03	0,10±0,008
16:0	9,18±0,06	9,17±0,06	13,17±1,27*
16:1	0,29±0,008	0,30±0,01	0,30±0,01
18:0	6,79±0,24	6,93±0,07	5,70±0,48
18:1	24,42±1,32	23,4±1,48	33,32±2,23**
18:2	30,50±0,80	32,22±1,0	25,29±2,14
18:3	20,80±0,55	21,30±0,48	18,52±0,50*
20:0	0,078±0,002	0,075±0,003	0,075±0,005
20:1	0,02±0,004	0,02±0,004	0,018±0,002
20:2	0,055±0,003	0,062±0,002	0,032±0,006**
20:3	0,29±0,01	0,29±0,01	0,20±0,04
20:4	4,50±0,08	4,65±0,08	1,69±0,91*
20:5	0,24±0,007	0,24±0,009	0,19±0,02*
22:2	0,10±0,005	0,10±0,003	0,08±0,006
22:3	0,095±0,003	0,095±0,003	0,088±0,01
22:4	0,11±0,005	0,12±0,006	0,08±0,01*
22:5	0,15±0,006	0,165±0,01	0,11±0,01**
22:6	0,17±0,007	0,16±0,01	0,15±0,01
Насичені	16,96±0,23	16,87±0,37	19,50±0,18**
Мононенасичені	24,73±0,27	23,72±0,24	33,64±0,20**
Поліненасичені	57,87±1,23	59,40±1,55	46,43±1,48**

При підвищенні рівня вітаміну D₃ в раціоні курей-несучок з 1250 МО/кг до 3750 МО/кг у загальних ліпідах яйцепроводу вірогідно зменшується відносна кількість олеїнової і збільшується кількість лінолевої, ліноленової і арахідонової кислот (p<0,001). Видно, що міжгрупові різниці у жирнокислотному складі загальних ліпідів у яйцепроводі курей-несучок виражені ще істотніше, причому їх напрямок і ступінь значно залежить від рівня вітаміну D₃ в раціоні. Ці різниці також можуть бути зумовлені змінами співвідношення окремих класів ліпідів у яйцепроводі курей-несучок, у результаті регуляторного впливу вітаміну D₃, при підвищенні його споживання. Про це свідчать виявлені нами зміни у ліпідному складі плазми крові, печінки і яйцепроводу у курей-несучок при підвищенні рівня вітаміну D₃ в раціоні.

Таблиця 3.37

Жирнокислотний склад загальних ліпідів яйцепроводу курей-несучок за різного рівня вітаміну D₃ в раціоні (M±m; n=5)

Код жирної кислоти	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
1	2	3	4
8:0	0,015±0,003	0,03±0,004*	0,03±0,004*
10:0	0,055±0,006	0,08±0,006*	0,07±0,004
12:0	0,01±0,006	0,15±0,02***	0,17±0,008
14:0	0,23±0,008	0,31±0,03*	0,36±0,02***
15:0	0,09±0,005	0,10±0,006	0,11±0,005*
16:0	14,34±0,21	12,89±1,03	10,87±0,09***
16:1	0,31±0,006	0,30±0,066	0,31±0,006
18:0	5,17±0,11	5,80±0,26	6,25±0,07**
18:1	38,02±0,47	28,95±1,41***	18,66±1,48***
18:2	21,64±0,31	27,08±1,11**	35,10±0,69***

Продовження таблиці 3.37

1	2	3	4
18:3	18,26±0,17	20,21±1,36	22,67±0,62***
20:0	0,07±0,006	0,075±0,006	0,06±0,004
20:1	0,018±0,002	0,012±0,002	0,025±0,003
20:2	0,032±0,005	0,035±0,006	0,05±0,004*
20:3	0,016±0,02	0,19±0,02***	0,25±0,01***
20:4	0,80±0,02	2,48±1,0	4,22±0,08***
20:5	0,18±0,01	0,19±0,01	0,21±0,01
22:2	0,08±0,006	0,22±0,15	0,085±0,003
22:3	0,09±0,005	0,075±0,003*	0,08±0,105
22:4	0,08±0,007	0,08±0,009	0,12±0,005**
22:5	0,11±0,009	0,11±0,01	0,17±0,005***
22:6	0,15±0,009	0,14±0,01	0,17±0,01
Насичені	19,98±0,21	19,44±0,11	17,92±0,32***
Мононенасичені	38,35±0,57	29,26±0,26***	19,00±0,73***
Поліненасичені	41,44±1,12	50,81±1,29***	63,13±1,51***

Одержані результати свідчать про вплив вітаміну D₃ при підвищенні його рівня в раціоні курей-несучок на жирнокислотний склад ліпідів печінки і яйцепроводу. У загальних ліпідах яйцепроводу курей-несучок третьої групи, порівняно до курей-несучок другої групи, так само як у печінці, виявлено менший вміст лінолевої і арахідонової кислот ($p < 0,05$) і більший вміст олеїнової кислоти. З'ясування причинно-наслідкового значення цих різниць потребує дальших досліджень.

3.2.4. Антиоксидантний статус органів і тканин курей-несучок.

З наведених у таблиці 3.38 даних видно, що рівень вітаміну D₃ в раціоні курей-несучок певною мірою впливає на активність антиоксидантної системи

в досліджуваних органах і тканинах. Вплив рівня вітаміну D₃ на інтенсивність пероксидних процесів у досліджуваних органах і тканинах курей специфічний для кожного з них окремо за напрямком і ступенем. Найбільш характерним є більший вміст деяких продуктів пероксидного окислення ліпідів у всіх досліджуваних органах і тканинах курей-несучок 1-ї групи, ніж у курей 2-ї групи. Зокрема, у печінці курей 1-ї групи, порівняно до курей 2-ї групи, виявлено вірогідно більший вміст дієнових кон'югатів ($p < 0,05$), у скелетних м'язах більший вміст ТБК-активних продуктів ($p < 0,05$), у яйцепроводі більший вміст гідроперекисів ліпідів ($p < 0,05$) і ТБК-активних продуктів ($p < 0,05$). Ці дані свідчать про посилення пероксидних процесів в усіх досліджуваних органах і тканинах курей-несучок при дефіциті рівня вітаміну D₃ в раціоні. Це можна пояснити зниженням активності глутатіонпероксидази, ключового фермента антиоксидантної системи в досліджуваних органах і тканинах курей при зниженні рівня вітаміну в раціоні. Про це свідчить вірогідно нижча активність глутатіонпероксидази в печінці, скелетних м'язах і яйцепроводі курей-несучок 1-ї групи ($p < 0,05$), порівняно до її активності в органах і тканинах курей-несучок 2-ї групи. З цих даних випливає, що дефіцит вітаміну D₃ в раціоні курей-несучок призводить не тільки до порушення метаболізму кальцію і фосфору в їхньому організмі, а і до зниження активності ферментної ланки антиоксидантної системи.

Різниця у вмісті продуктів перекисного окислення ліпідів і активності антиоксидантних ферментів у досліджуваних органах і тканинах курей-несучок 3-ї групи, порівняно до курей 1-ї групи не вірогідні ($p < 0,05$), що свідчить про однакову дію вітаміну D₃ при вмісті його в раціоні курей-несучок 2500 і 3750 МО/кг комбікорму на активність антиоксидантної системи в досліджуваних органах і тканинах.

Таблиця 3.38

**Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів
і активність антиоксидантних ферментів у тканинах (M±m; n=10).**

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
Печінка			
Дієнові конюгати, мкмоль/г	12,5±1,00	10,1±0,45*	8,97±0,40
Гідроперекиси ліпідів, од.Σ ₄₅₀ /г	4,59±0,40	4,57±0,35	4,06±0,18
ТБК-активні продукти, ммоль/г	5,65±0,33	5,20±0,30	4,63±0,30
Супероксиддисмутаза, ммоль/мг білка хв	3,21±0,21	3,50±0,24	3,81±0,32
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH/г білка хв	28,5±1,84	35,0±2,60*	37,7±2,31
Каталаза, H ₂ O ₂ ммоль/г білка хв	1,50±0,11	1,52±0,18	1,68±0,09
Скелетний м'яз			
Дієнові конюгати, мкмоль/г	14,0±1,40	11,2±0,98	10,2±1,13
Гідроперекиси ліпідів, од.Σ ₄₅₀ /г	5,12±0,30	4,96±0,45	4,06±0,17
ТБК-активні продукти, ммоль/г	6,85±0,51	4,86±0,82*	4,18±0,40
Супероксиддисмутаза, ммоль/мг білка хв	3,50±0,11	3,78±0,42	4,20±0,21
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH/г білка хв	32,2±2,50	48,3±3,10*	46,2±1,50
Каталаза, H ₂ O ₂ ммоль/г білка хв	1,42±0,12	1,46±0,08	1,57±0,07
Яйцепровід			
Дієнові конюгати, мкмоль/г	18,1±1,10	15,2±1,65	11,7±0,73
Гідроперекиси ліпідів, од.Σ ₄₅₀ /г	7,89±0,38	6,63±0,45*	6,06±0,28
ТБК-активні продукти, ммоль/г	6,73±0,68	4,10±0,22*	4,90±0,46
Супероксиддисмутаза, ммоль/мг білка хв	3,05±0,33	3,80±0,33	4,02±0,42
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH/г білка хв	34,7±2,65	48,0±1,40*	54,1±3,10
Каталаза, H ₂ O ₂ ммоль/г білка хв	2,01±0,24	2,48±0,10	2,54±0,12

3.2.5. Хімічний склад та морфометричні параметри яєць. Вітамін D₃ вплинув на деякі показники жовтка яєць (табл. 3.39). Зокрема, за згодовування курям вітаміну D₃ у кількості 3750 МО/кг корму, порівняно до курей, які отримували 1250 МО вітаміну D₃ на кілограм корму, вміст триацилгліцеролів у жовтку зріс з 15,39 до 17,02 % (p<0,01), а вміст загального холестеролу — з 2,33 до 2,51 %. При цьому, дещо знижувався вміст фосфоліпідів, тому загальний вміст ліпідів у жовтку залишався незмінним. З мінеральних речовин, у жовтку курей 3-ї групи виявлено збільшення вмісту Кальцію та зменшення вмісту Цинку (p<0,01).

Таблиця 3.39

Хімічний склад жовтка яєць (M±m; n=10)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
Суша речовина, %	51,28±1,65	50,36±2,15	50,73±1,82
Білок, %	15,56±0,32	15,71±0,72	15,52±0,37
Ліпіди, %	30,21±1,19	29,43±1,27	30,44±0,23
Триацилгліцероли, %	15,39±0,43	15,73±0,31	17,02±0,27**
Фосфоліпіди, %	11,54±0,63	10,67±0,52	10,18±0,39
Холестерол, %	2,33±0,09	2,24±0,05	2,51±0,05
Ca, мг/г	1,45±0,05	1,58±0,07	1,81±0,06***
P, мг/г	6,91±0,22	6,84±0,34	6,79±0,45
Mg, мг/г	0,19±0,02	0,21±0,02	0,19±0,01
Fe, мкг/г	75,31±3,52	72,40±6,43	74,33±3,95
Cu, мкг/г	1,35±0,04	1,38±0,08	1,30±0,11
Zn, мкг/г	24,12±0,82	20,46±0,51**	21,13±0,49**

Жоден з показників хімічного складу яєчного білка не зазнав вірогідних змін при збільшенні кількості вітаміну D у раціоні курей (табл.

3.40). Тим не менш, виявлено тенденції до зростання вмісту Кальцію і Фосфору та до зменшення вмісту Цинку.

Таблиця 3.40

Хімічний склад білка яєць ($M \pm m$; $n=10$)

Показники	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
Суша речовина, %	12,57±0,39	12,62±0,27	12,91±0,55
Білок, %	10,95±0,37	10,82±0,33	11,07±0,39
Ліпіди, %	0,25±0,01	0,24±0,02	0,24±0,02
Триацилгліцероли, %	0,19±0,01	0,18±0,01	0,18±0,01
Фосфоліпіди, %	0,03±0,005	0,03±0,002	0,03±0,003
Холестерол, %	0,02±0,003	0,02±0,002	0,02±0,002
Ca, мг/г	0,10±0,01	0,14±0,01	0,14±0,01
P, мг/г	0,35±0,01	0,34±0,02	0,40±0,02
Mg, мг/г	0,06±0,01	0,08±0,02	0,09±0,02
Fe, мкг/г	1,43±0,08	1,39±0,09	1,54±0,05
Cu, мкг/г	0,67±0,02	0,60±0,03	0,69±0,02
Zn, мкг/г	2,78±0,06	2,52±0,10	2,40±0,07

У шкаралупі яєць курей, яким згодовували більшу кількість вітаміну D₃, зростав вміст Кальцію і загального білка та знижувався вміст Магнію (табл. 3.41). Зокрема, при збільшенні у раціоні кількості вітаміну з 1250 до 2500 МО/кг вміст Кальцію у шкаралупі зріс на 15,97 % ($p < 0,05$), а за підвищення кількості вітаміну до 3750 МО/кг він був більшим на 20,11 % ($p < 0,01$). Вміст Фосфору теж дещо зростав, проте зміни не були статистично вірогідними. Вміст загального білка зростав у шкаралупі курей 2-ї та 3-ї груп, порівняно з 1-ю групою, на 11,66 ($p < 0,05$) та 20,82 % ($p < 0,001$). Вміст магнію у шкаралупі яєць цих курей був меншим на 6,74 та 6,15 % ($p < 0,05$).

Таблиця 3.41

Хімічний склад шкаралупи яєць ($M \pm m$; $n=10$)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
Суша речовина, %	96,33±2,11	96,55±3,05	96,34±3,79
Білок, %	1,63±0,06	1,82±0,08*	1,97±0,04***
Ліпіди, %	0,16±0,01	0,15±0,01	0,15±0,02
Ca, мг/г	321,53±10,42	372,88±8,71*	386,21±12,07**
P, мг/г	1,18±0,03	1,24±0,05	1,30±0,08
Mg, мг/г	3,56±0,09	3,32±0,11	3,34±0,07*
Fe, мкг/г	20,34±0,61	18,42±1,09	20,17±1,36
Cu, мкг/г	7,06±0,22	7,23±0,15	7,39±0,18
Zn, мкг/г	5,42±0,13	5,71±0,40	5,37±0,28

Збільшення кількості вітаміну D₃ у раціоні курей-несучок не вплинуло на несучість, проте маса яєць зросла на 2,9–3,4 г (табл. 3.42).

Таблиця 3.42

Морфометричні показники якості яєць ($M \pm m$; $n=10$)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	1250	2500	3750
Кількість, шт./30днів	20,3±0,58	20,4±0,66	20,5±0,37
Маса яйця, г	61,39±2,54	64,27±2,63	64,79±2,92
Маса жовтка, г	15,30±0,42	16,50±0,31*	17,41±0,40**
Маса білка, г	40,39±2,63	40,72±2,56	39,46±1,55
Маса шкаралупи, г	5,65±0,18	5,97±0,24*	6,23±0,32*
Індекс форми, %	75,14±3,11	76,33±3,82	75,27±2,54
Міцність, кг/см ²	4,45±0,17	4,69±0,19	4,75±0,18

Зростання ваги яєць відбулось за рахунок більшої маси жовтка і шкаралупи. Так, маса жовтка яєць курей 2-ї групи була на 7,84 % ($p < 0,05$), а курей 3-ї групи на 13,79 % ($p < 0,01$) більшою, ніж у курей 1-ї групи. Маса шкаралупи яєць у курей 2-ї та 3-ї груп зросла, порівняно з шкаралупою яєць курей 1-ї групи ($p < 0,05$). Вітамін D сприяв більшій міцності шкаралупи, яка у курей 2-ї групи підвищилась на 5,39 %, а у курей 3-ї групи на 6,74 %.

Заклучення.

Збільшення рівня вітаміну D₃ в раціоні курей-несучок з 1250 до 3750 МО/кг призводить до вірогідного збільшення концентрації 25-ОН D₃, триацилгліцеролів, НЕЖК, загального Кальцію, і зменшення концентрації холестеролу в крові. Підвищення вмісту вітаміну D₃ в раціоні курей-несучок зменшує концентрацію продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові. Рівень вітаміну D₃ в раціоні курей-несучок суттєво не впливає на активність антиоксидантних ферментів плазми крові.

За додавання до раціону 3750 МО/кг вітаміну D зростала фагоцитарна активність крові, що узгоджується з більшою кількістю задіяних у фагоцитозі клітин: нейтрофілів та попередників макрофагів — моноцитів.

Підвищення рівня вітаміну D₃ в згодовуваному курям-несучкам комбікормі призводить до вірогідного збільшення відносного вмісту насичених і зменшення вмісту поліненасичених жирних кислот у складі загальних ліпідів печінки. У загальних ліпідах яйцепроводу курей-несучок, навпаки, зменшується відносний вміст насичених і збільшується відносний вміст поліненасичених жирних кислот.

У печінці курей-несучок, вміст вітаміну D₃ в раціоні яких становив 1250 МО/кг, виявлено вірогідно більшу концентрацію дієнових кон'югатів ліпідів, у скелетному м'язі — ТБК-активних продуктів, а у яйцепроводі — обох вказаних продуктів пероксидного окиснення.

Активність глутотіонпероксидази у печінці, скелетних м'язах і яйцепроводі курей, які отримували 1250 МО/кг була нижча, ніж у курей-несучок, вміст вітаміну D₃ в раціоні яких був 2500 та 3750 МО/кг. Підвищення рівня вітаміну D₃ в раціоні курей до 3750 МО/кг суттєво не вплинуло на вміст продуктів пероксидного окислення ліпідів і активність антиоксидантних ферментів у вказаних органах і тканинах.

За згодовування курям вітаміну D₃ у кількості 3750 МО/кг корму, порівняно до курей, які отримували 1250 МО вітаміну D₃ на кілограм корму, у жовтку яєць зріс вміст триацилгліцеролів (p<0,01) та Кальцію (p<0,01). У шкаралупі яєць курей, яким згодовували більшу кількість вітаміну D, зростав вміст протеїну (p<0,001) Кальцію (p<0,01) та знижувався вміст Магнію (p<0,05). Збільшення кількості вітаміну D₃ у раціоні курей-несучок не вплинуло на несучість, проте маса яєць зросла на 2,9–3,4 г.

Результати досліджень висвітлено у наступних публікаціях [11, 14, 19, 20, 21, 22].

3.3. Вплив введення до раціону курей несучок 2500, 5000 та 10000 МО/кг вітаміну D₃ на обмін речовин та склад яєць

3.3.1. Метаболічний профіль крові курей-несучок. Збільшення у раціоні курей-несучок кількості вітаміну D₃ призвело до зростання у плазмі крові концентрації його гідроксильованої форми 25-ОН D₃, причому ці зміни не пропорційні дозі згодованого вітаміну (табл. 3.43). Так, при підвищенні вмісту у раціоні вітаміну D₃ з 2,5 до 5,0 тис. МО/кг концентрація 25-ОН D₃ у плазмі крові змінилась незначно, тоді як подальше його збільшення до 10,0 тис. МО/кг збільшило його концентрацію майже удвічі (p<0,001).

Таблиця 3.43

Біохімічні показники крові (M±m; n=10)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	2500	5000	10000
Загальний білок, г/л	51,27±1,95	50,42±1,08	49,17±1,50
Глюкоза ммоль/л	5,07±0,22	5,42±0,18	5,26±0,23
Загальні ліпіди, г/л	25,87±2,07	26,33±0,95	25,09±1,59
Триацилгліцероли, ммоль/л	0,54±0,15	0,59±0,09	0,58±0,21
НЕЖК, ммоль/л	0,36±0,05	0,32±0,02	0,33±0,03
Холестерол, ммоль/л	2,35±0,11	2,58±0,08	2,51±0,07
Загальний Кальцій, ммоль/л	4,31±0,18	4,45±0,14	4,34±0,20
Іонізов. Кальцій, ммоль/л	1,41±0,08	1,35±0,03	1,37±0,07
Фосфор, ммоль/л	1,85±0,05	1,92±0,07	1,90±0,04
Магній, ммоль/л	0,72±0,02	0,64±0,04	0,62±0,02
Ca/P	2,33±0,09	2,32±0,05	2,28±0,08
25-ОН D ₃ , нг/мл	15,12±0,49	16,56±0,44	27,25±0,51***
Лужна фосфатаза, Од./л	128,13±6,32	137,51±7,22	135,24±5,22

Такі відмінності можуть бути наслідком подальшого метаболізму 25-ОН D₃ та його перетворення у активну форму 1,25-(ОН)₂ D₃ (кальцитріол). Оскільки потреба організму в кальцитріолі визначається не надходженням попередників, а метаболічним станом клітин, збільшення кількості вітаміну D₃ в раціоні призводить до депонування у крові неактивного попередника 25-ОН D₃, який у подальшому поступово використовується клітинами. Виняток становлять клітини імунної системи (макрофаги, дендритні клітини), у яких відсутні механізми інгібування синтезу кальцитріолу, що призводить до його накопичення. Очевидно, при дозі 5,0 тис. МО/кг корму 25-ОН D₃ майже повністю переводиться у активну 1,25 (ОН)₂ форму, тоді як при дозі 10 тис. МО/кг значна його частина продовжує циркулювати у кров'яному руслі.

На усі інших досліджувани показники збільшення у раціоні кількості вітаміну D статистично вірогідно не вплинуло.

Як видно з даних таблиці 3.44, на відміну від курей попереднього досліду (див. табл. 3.32), де при збільшенні у складі раціону вмісту вітаміну D₃ знижувалась концентрація продуктів пероксидного окиснення у крові, за використання дуже великих доз вітаміну D₃, впливу на перебіг цих процесів не спостерігається. Серед ензимів антиоксидантного захисту виявлено помірне зниження активності глутатіонпероксидази.

Таблиця 3.44

Антиоксидантний стан крові курей-несучок (M±m; n=10)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	2500	5000	10000
Дієнові конюгати, ммоль/л	7,12±0,55	7,45±0,38	7,28±0,73
Гідроперекиси ліпідів, од.Σ ₄₅₀ /мл	4,01±0,28	3,91±0,36	4,13±0,21
ТБК-продукти, нмоль/мл	8,13±0,63	8,45±0,45	8,42±0,58
Супероксиддисмутаза, ммоль/хв·г білка	2,24±0,19	2,27±0,22	2,31±0,25
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH/хв·г білка	70,37±5,27	62,48±3,20	60,19±4,47*
Каталаза, H ₂ O ₂ ммоль/хв·г білка	5,15±0,27	5,33±0,31	5,05±0,19

3.3.2. Гематологічні показники курей-несучок. З літературних даних відомо, що вітамін D впливає на еритропоез у людей. Отримані нами результати вказують на взаємозв'язок між надходженням вітаміну D та еритропоетичною функцією курей. Підвищення у раціоні вмісту вітаміну D₃ з 2,5 до 5,0 та 10,0 тис. МО/кг збільшувало кількість еритроцитів і, відповідно, концентрацію гемоглобіну у крові (p<0,05) (табл. 3.45). Кількість еритроцитів зростала поступово пропорційно збільшенню кількості вітаміну D. Дещо

інша закономірність виявлена для гемоглобіну. Збільшення вмісту вітаміну D в раціоні з 2,5 до 5,0 тис. МО/кг на третину підвищила його концентрацію в еритроцитах. Натомість, подальше підвищення дози до 10,0 тис. МО/кг не вплинуло суттєво на концентрацію гемоглобіну, яка в еритроцитах курей 2-ї та 3-ї груп майже не відрізнялась. Отже, концентрація гемоглобіну зростала не лише завдяки збільшенню чисельності еритроцитів, а й внаслідок більшого його вмісту в еритроциті. Слід зазначити, що кількість еритроцитів і гемоглобіну у крові курей усіх трьох піддослідних груп не виходили за межі фізіологічної норми.

Таблиця 3.45

Гематологічні показники (M±m, n=10)

Показники	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	2500	5000	10000
Еритроцити, Т/л	2,89±0,14	3,23±0,30	3,49±0,23*
Гемоглобін, г/л	100,68±8,18	127,69±8,19*	132,59±5,27**
Лейкоцити, Г/л	39,06±1,56	31,15±1,47**	34,33±1,77*

Зі збільшенням у раціоні вмісту вітаміну D₃ з 2,5 до 5,0 тис. МО/кг у крові курей зменшувалась кількість лейкоцитів (p<0,05–0,01). При подальшому підвищенні вмісту вітаміну D до 10,0 тис. МО/кг кількість лейкоцитів залишилась на тому ж рівні, що й за дози 5,0 тис. МО/кг.

Більша кількість лейкоцитів при низькому вмісті вітаміну D може свідчити про вищий рівень проникнення в організм антигенних чинників. Таке припущення узгоджується зі змінами кількості лімфоцитів у крові (табл. 3.46).

Хоча відносна частка лімфоцитів у лейкоцитарній формулі курей 2-ї дослідної групи зменшилась несуттєво, абсолютна кількість лімфоцитів у цій групі, враховуючи меншу загальну кількість лейкоцитів, була значно

меншою, ніж у контролі. Отже, більша кількість лейкоцитів у курей 1-ї групи спричинена зростанням кількості саме лімфоцитів, які відповідають за специфічну імунну відповідь. У складі лейкоцитів крові курей 3-ї групи спостерігалось подальше зменшення відсотка лімфоцитів ($p < 0,05$), проте враховуючи дещо більшу загальну кількість лейкоцитів, абсолютна кількість лімфоцитів у курей 2-ї та 3-ї дослідних груп відрізнялась незначно.

У крові курей, які отримували з раціоном підвищену кількість вітаміну D_3 , виявлено більшу кількість моноцитів та нейтрофілів, тобто клітин відповідальних за фагоцитоз.

Особливо значний вплив виявлено для моноцитів, частка яких у курей 2-ї групи зросла в 1,2; а у курей 3-ї групи — в 1,6 рази ($p < 0,01$), порівняно з курми 1-ї групи. Зростання під впливом вітаміну D_3 кількості моноцитів узгоджується з результатами отриманими при дослідженні дії вітаміну D на гематологічні показники у людей [121; 218].

Таблиця 3.46

Лейкоцитарна формула, % ($M \pm m$, $n=10$)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D_3 , МО/кг корму		
	2500	5000	10000
Лімфоцити	58,95±2,49	54,57±1,59**	48,26±1,97*
Нейтрофіли	27,42±2,52	31,43±1,41	35,34±1,71*
Моноцити	5,17±0,66	6,30±0,36	8,52±0,53**
Базофіли	2,51±0,14	2,34±0,11	2,44±0,22
Еозинофіли	5,95±0,48	5,36±0,63	5,44±0,40

Кількість вітаміну D_3 у раціоні вплинула на стан неспецифічної резистентності курей (табл. 3.47). У крові курей 3-ї дослідної групи під впливом згодовування підвищеної кількості вітаміну D_3 зросла фагоцитарна

активність ($p < 0,05$), що узгоджується з наведеним вище збільшенням кількості моноцитів та нейтрофілів.

Бактерицидна активність сироватки крові була приблизно однакова у курей 2-ї та 3-ї груп, які отримували у складі раціону відповідно 5,0 та 10,0 тис. МО/кг вітаміну D₃, а у курей 1-ї групи, які отримували 2,5 тис. МО/кг вітаміну D₃ цей показник був на 20 % нижчий ($p < 0,05$).

Таблиця 3.47

Показники неспецифічної резистентності, % (M±m, n=10)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	2500	5000	10000
Бактерицидна акт.	62,24±0,97	74,98±2,40**	72,07±2,56**
Лізоцимна акт.	23,81±2,28	18,22±2,24	26,62±3,28
Фагоцитарна акт.	31,18±1,92	33,59±2,11	38,42±1,97*

Бактерицидна активність сироватки крові — це сумарна дія всіх гуморальних бактерицидних факторів: антитіл, системи комплементу, лізоциму, бета-лізину, пропердину, тощо. Оскільки з них ми досліджували лише активність лізоциму, на яку вітамін D₃ не вплинув, нам важко інтерпретувати дію вітаміну D₃ на бактерицидну активність, це вимагає подальших досліджень.

Таким чином, збільшення у раціоні курей кількості вітаміну D₃ посилює неспецифічний імунітет, і не стимулює специфічну його ланку. Більше того, кількість лімфоцитів при цьому зменшується. Очевидно, більш ефективно попередження проникнення в організм антигенних чинників зменшує необхідність проліферації лейкоцитів.

3.3.3. Хімічний склад та морфометричні параметри яєць. У білку яєць курей, які отримували більші за норму кількості вітаміну D₃ зростав вміст Кальцію ($p < 0,05$), причому як і у жовтку це зростання не залежало від

доза (табл. 3.48). На відміну від жовтк, при використанні дози 10,0 тис. МО/кг вітаміну D₃ у складі білка одночасно зріс вміст Фосфору (p<0,05).

У білку яєць виявлено зворотну, порівняно до жовтк тенденцію змін вмісту Купруму та Цинку. Зокрема, у складі білка кількість Купруму дещо зростала (p<0,05), а кількість Цинку знижувалась (p<0,05).

Таблиця 3.48

Хімічний склад білка яєць (M±m; n=10)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	2500	5000	10000
Суша речовина, %	12,65±0,33	12,57±0,21	12,54±0,19
Білок, %	10,56±0,26	10,62±0,39	10,49±0,24
Ліпіди, %	0,22±0,01	0,21±0,02	0,22±0,02
Триацилгліцероли,%	0,17±0,01	0,16±0,01	0,17±0,01
Фосфоліпіди, %	0,03±0,02	0,03±0,01	0,03±0,02
Холестерол, %	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01
Са, мг/г	0,12±0,01	0,15±0,01*	0,16±0,01*
Р, мг/г	0,31±0,02	0,35±0,03	0,38±0,02*
Мg, мг/г	0,08±0,03	0,09±0,02	0,09±0,04
Fe, мкг/г	1,64±0,17	1,72±0,13	1,84±0,10
Сu, мкг/г	0,55±0,04	0,62±0,05	0,65±0,03*
Zn, мкг/г	2,49±0,10	2,31±0,15	2,25±0,08*

Дослідження хімічного складу яєчного жовтк показали, що введення до раціону курей-несучок 10,0 тис. МО/кг вітаміну D₃ впливає на показники ліпідного обміну (табл. 3.49). У складі жовтк курей цієї групи, порівняно до контрольної групи, виявлено вірогідне збільшення вмісту триацилгліцеролів

($p < 0,01$) та холестеролу ($p < 0,01$). Внаслідок цього, у жовтку зросла кількість загальних ліпідів, хоча різниця не була статистично вірогідною.

Таблиця 3.49

Хімічний склад жовтка яєць ($M \pm m$; $n=10$)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	2500	5000	10000
Суша речовина, %	50,25±2,14	50,78±1,87	49,61±1,90
Білок, %	15,21±0,51	15,35±0,42	15,24±0,67
Ліпіди, %	30,46±1,26	31,65±2,23	33,87±1,53
Триацилгліцероли, %	17,12±0,62	17,52±0,69	19,36±0,44**
Фосфоліпіди, %	10,75±0,70	10,54±0,25	11,08±0,57
Холестерол, %	2,28±0,05	2,31±0,11	2,55±0,07**
Са, мг/г	1,51±0,07	1,76±0,05**	1,79±0,08*
Р, мг/г	6,74±0,19	6,65±0,28	6,72±0,32
Мг, мг/г	0,16±0,01	0,17±0,02	0,18±0,01
Fe, мкг/г	80,23±4,73	82,33±5,65	78,48±3,12
Сu, мкг/г	1,29±0,05	1,31±0,10	1,35±0,08
Zn, мкг/г	30,12±1,93	25,67±0,91	26,90±0,73*

Слід відмітити, що збільшення вмісту триацилгліцеролів у жовтку яєць курей, що отримували 10,0 тис. МО/кг вітаміну D₃, було вірогідно більшим й від показника курей, раціон яких містив 5,0 тис. МО/кг вітаміну D₃. Обидві досліджувані дози вітаміну D₃ впливали на вміст у жовтку Кальцію, збільшуючи його вміст на 16 та 18 % ($p < 0,05-0,01$). Помітна тенденція до зростання під впливом високих доз вітаміну D₃ кількості Купруму та зменшення кількості Цинку.

Дослідження яєць показало, що високі дози кормового вітаміну D₃ змінюють співвідношення жирних кислот жовтка (табл. 3.50). У складі ліпідів жовтка яєць курей дослідних груп, які отримували 5 та 10 тисяч МО вітаміну D₃ у 1 кг корму, порівняно до жовтка яєць курей комбікорм яких містив вітамін D у кількості 2,5 тисяч МО/кг зменшився вміст насичених і, відповідно, збільшився вміст ненасичених жирних кислот. Вплив дози вітаміну D₃ на цей показник був незначним, у курей 2-ї та 3-ї дослідних груп жовток містив у 1,2 разу менше насичених жирних кислот (різниця не достовірна). Вказані зміни відбулися за рахунок зменшення кількості пальмітинової (16:0) та стеаринової (18:0) кислот, частка яких у жовтку яєць курей 1-ї та 2-ї дослідних груп була меншою ніж у контрольній групі для пальмітинової кислоти у 1,24 та 1,27, а для стеаринової кислоти — 1,18 та 1,25 разу ($p < 0,05$), тобто як і для загальної кількості насичених жирних кислот різниць між 1-ю та 2-ю дослідними групами не виявлено. Вірогідне зменшення встановлено і за вмістом міристинової (14:0) кислоти ($p < 0,05$), проте її вміст у складі ліпідів жовтка невеликий, тому вплив змін кількості цієї кислоти на сумарну кількість насичених жирних кислот незначний.

Зростання частки ненасичених жирних у жовтку курей дослідних груп відбулось, головним чином, за рахунок олеїнової (18:1) кислоти. Хоча її частка збільшилась статистично не вірогідно, проте вона домінує серед ненасичених жирних кислот, тому кількісно її внесок визначає зміну співвідношення насичених та ненасичених жирних кислот. Внаслідок зміни вмісту олеїнової кислоти зросла сумарна частка мононенасичених жирних кислот.

Зазвичай, при оцінюванні жирнокислотного складу основну увагу приділяють біологічно активним поліненасиченим жирним кислотам. За додавання до раціону курей підвищених кількостей вітаміну D₃ їх вміст у жовтку яєць зростав.

Таблиця 3.50

Жирнокислотний склад жовтка яєць ($M \pm m$, $n=5$)

Жирні кислоти	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	2500	5000	10000
10:0	0,04±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01
12:0	0,06±0,01	0,05±0,01	0,06±0,01
14:0	0,19±0,01	0,16±0,01	0,17±0,01*
16:0	26,82±2,79	21,64±1,84*	21,06±1,79*
16:1	3,54±0,41	3,45±0,19	3,53±0,39
18:0	9,11±0,32	7,70±0,48*	7,31±0,39*
18:1	42,19±2,94	46,39±2,27	45,98±2,82
18:2	13,28±0,76	14,87±1,08	15,88±1,18
18:3	1,11±0,10	1,63±0,06*	1,73±0,14**
20:0	0,22±0,03	0,24±0,04	0,21±0,03
20:1	0,34±0,06	0,39±0,05	0,32±0,09
20:2	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01
20:3	0,42±0,07	0,40±0,02	0,38±0,04
20:4	1,62±0,08	1,75±0,07	2,00±0,17*
20:5	0,15±0,01	0,17±0,01*	0,17±0,01*
22:2	0,01±0,01	0,01±0,01	0,01±0,01
22:3	0,16±0,02	0,15±0,03	0,12±0,03
22:4	0,11±0,03	0,17±0,03	0,15±0,02
22:5	0,22±0,03	0,20±0,04	0,24±0,03
22:6	0,36±0,06	0,56±0,06	0,60±0,07*
Насичені	36,47±2,71	29,86±1,97*	28,87±1,98*
Мононенасичені	46,07±3,09	50,23±2,28	49,83±2,81
Поліненасичені	17,46±0,84	19,91±1,10	21,31±1,15*
ω6/ω3	8,65±0,76	6,82±0,29**	6,79±0,41*

Так, у складі жирних кислот жовтка яєць курей 1-ї дослідної групи, раціон яких містив 5 тисяч МО/кг вітаміну D₃, порівняно до жовтка яєць курей контрольної групи (2,5 тис. МО/кг) частка поліненасичених жирних кислот була більшою у 1,14 рази, а жовток курей 2-ї дослідної групи, яким згодовували раціон з 10 тис. МО/кг вітаміну D₃, містив, порівняно до контрольної групи, у 1,22 разу більше поліненасичених жирних кислот.

Під впливом згодовування курам-несучкам більшої за норму кількості вітаміну D₃ у ліпідах яєчного жовтка суттєво зросла частка ліноленової (18:3 ω₃) кислоти. У жовтку курей 1-ї дослідної групи її вміст перевищував відповідний показник контрольної групи у 1,47 разу (p<0,05), а у жовтку яєць курей 2-ї дослідної групи ця різниця становила 1,56 разу (p<0,01). При цьому, зростала також кількість похідних ліноленової кислоти, які утворюються внаслідок її елонгації та десатурації: ейкозапентаєнової (20:5 ω₃) та докозагексаєнової (22:6 ω₃) кислот.

Частка ейкозапентаєнової кислоти у жовтку яєць курей 1-ї та 2-ї дослідних груп була більшою за показник контрольної групи у 1,13 разу (p<0,05), а частка докозагексаєнової кислоти перевищувала показник контрольної групи у 1-й дослідній групі в 1,56; а у 2-й — в 1,67 разу (p<0,05). Подібна тенденція встановлена й для ω₆ поліненасичених жирних кислот. Зокрема, у жовтку курей дослідних груп було більше арахідонової (20:4 ω₆) кислоти. Для курей 1-ї дослідної групи це зростання становило 1,08; а 2-ї дослідної групи — 1,23 разу (p<0,05), порівняно з контролем.

Як і у випадку з мононенасиченими кислотами, зміна сумарного вмісту поліненасичених кислот зумовлена статистично не вірогідним зростанням частки домінуючої кислоти, у даному випадку — лінолевої (18:2). Проте, незважаючи на відсутність статистичної вірогідності, зростання частки лінолевої кислоти впливає на зниження співвідношення ω₆ та ω₃ кислот, яке було вірогідним як для 1-ї, так і для 2-ї дослідних груп. Порівняно до контрольної групи, співвідношення ω₆/ω₃ у жовтку курей 1-ї дослідної групи

зменшилось у 1,31 разу ($p < 0,01$), а у жовтку курей 2-ї дослідної групи — у 1,27 разу ($p < 0,05$). Це важливий результат, який свідчить про підвищення біологічної цінності ліпідів жовтка курей.

Вплив вітаміну D_3 на ступінь насиченості жирних кислот у цілому та елонгацію і десатурацію поліненасичених жирних кислот свідчить про його участь у регуляції метаболізму ліпідів. Очевидно, це пов'язано з особливостями дії цього вітаміну. Відомо, що вітамін D_3 , на відміну від інших вітамінів, регулює обмін речовин за гормональним принципом, тобто він діє на специфічні рецептори цитоплазматичної мембрани та клітинного ядра, впливаючи на експресію генів. Не виключено, що вітамін D_3 бере участь у регуляції синтезу та активності задіяних у метаболізмі жирних кислот ензимів.

За додавання до раціону курей 5,0 та 10,0 тис. МО/кг вітаміну D_3 статистично вірогідних змін у складі шкаралупи яєць не виявлено, проте встановлена тенденція до збільшення у ній вмісту Кальцію та зниження вмісту Цинку (табл. 3.51). Вказані зміни не залежали від доданої понад норму кількості вітаміну, тобто доза 5,0 тис. МО/кг вплинула на вміст Кальцію і Цинку з однаковою інтенсивністю.

Таблиця 3.51

Хімічний склад шкаралупи яєць ($M \pm m$; $n=10$)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D_3 , МО/кг корму		
	2500	5000	10000
1	2	3	4
Суха речовина, %	97,17 \pm 1,39	96,87 \pm 1,75	96,93 \pm 1,53
Білок, %	1,89 \pm 0,08	1,93 \pm 0,05	2,02 \pm 0,07
Ліпіди, %	0,14 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	0,15 \pm 0,02
Са, мг/г	355,78 \pm 14,18	387,50 \pm 16,30	385,64 \pm 11,75

Продовження таблиці 3.51

1	2	3	4
P, мг/г	1,21±0,02	1,19±0,06	1,23±0,04
Mg, мг/г	3,24±0,27	3,22±0,09	3,15±0,15
Fe, мкг/г	22,47±0,87	22,17±2,01	21,06±1,18
Cu, мкг/г	8,35±0,36	8,31±0,45	8,42±0,29
Zn, мкг/г	4,35±0,11	4,11±0,20	4,08±0,17

Внаслідок збільшення вмісту Кальцію зросла маса шкаралупи (табл. 3.52), яка також збільшувалась незалежно від кількості доданого понад норму вітаміну D₃ (p<0,05), міцність шкаралупи, при цьому, не змінилась.

Таблиця 3.52

Морфометричні показники якості яєць (M±m; n=10)

Показник	Вміст вітаміну у раціоні D ₃ , МО/кг корму		
	2500	5000	10000
Кількість, шт./ 30 днів	25,44±1,12	25,80±0,43	25,32±0,52
Маса яйця, г	62,93±1,59	62,11±2,02	62,52±2,37
Маса жовтка, г	16,01±0,32	17,41±0,20**	17,30±0,47*
Маса білка, г	39,89±1,42	37,31±1,56	37,74±1,71
Маса шкаралупи, г	6,74±0,20	7,38±0,31*	7,47±0,27*
Індекс форми, %	76,35±2,12	75,87±3,56	76,33±1,79
Міцність, кг/см ²	4,74±0,19	4,81±0,11	4,77±0,24

Маса зростала жовтка, вона у яйці курей обох дослідних груп була на 8 % більшою, ніж у яйці курей контрольної групи (p<0,05). Одночасно з цим, маса білка яєць при додаванні великої кількості вітаміну D₃ знизилась, тому маса яйця у курей усіх досліджуваних груп була приблизно однаковою.

Додавання збільшених кількостей вітаміну D₃ не вплинуло на яйценосність курей.

Заключення.

Останнім часом уявлення про біологічну функцію вітаміну D зазнали суттєвих змін. Встановлено, що вітамін D не лише регулює обмін Кальцію, а й впливає на обмін речовин у цілому за гормональним типом, тобто спектр його дії ширший, ніж вважалося раніше. Цей вплив відносно глибоко вивчений на лабораторних тваринах, тоді як даних щодо птиці майже немає.

Результати наших досліджень показали, що концентрація 25-ОН гідроксिवітаміну D у плазмі крові курей-несучок нелінійно залежить від його кількості у раціоні. Збільшення вмісту вітаміну D₃ у раціоні з 2,5 до 5,0 тис. МО/кг не вплинуло на концентрацію 25-ОН D₃ у плазмі крові, тоді як підвищення дози до 10 тис. МО/кг збільшило її удвічі.

Підвищення вмісту вітаміну D₃ у раціоні збільшує кількість еритроцитів та концентрацію гемоглобіну і зменшує кількість лейкоцитів у крові курей-несучок. За більшої кількості вітаміну D₃ в раціоні у крові курей-несучок зростає кількість моноцитів і нейтрофілів та підвищується фагоцитарна і бактерицидна активність.

Збільшення в раціоні курей-несучок кількості вітаміну D₃ з 2,5 до 5,0 та 10,0 тис. МО/кг підвищує вміст Кальцію у жовтку, білку та шкаралупі яєць. Різниці між дією доз 5,0 та 10,0 тис. МО/кг на вміст Кальцію незначні.

Підвищення дози вітаміну D₃ до 10,0 тис. МО/кг комбікорму збільшує вміст загальних ліпідів у жовтку, яке відбувається внаслідок більшої кількості триацилгліцеролів та холестеролу.

Збільшення у раціоні курей-несучок вмісту вітаміну D₃ у 2 і 4 рази понад рекомендовану нормами кількість (5,0 і 10,0 замість 2,5 тис. МО/кг) зменшує частку насичених і збільшує частку ненасичених жирних кислот у ліпідах яєчного жовтка ($p < 0,05$). За більшої кількості вітаміну D₃ в раціоні

у ліпідах жовтка зростає вміст поліненасичених жирних кислот: ліноленової, арахідонової, ейкозапентаєнової та докозарентаєнової ($p < 0,05-0,01$). При цьому, зменшується співвідношення $\omega 6/\omega 3$ кислот, що свідчить про краще забезпечення організму курей та яєць, як продукту харчування $\omega 3$ поліненасиченими жирними кислотами.

Введення до раціону курей-несучок 5,0 та 10,0 тис. МО/кг вітаміну D₃, порівняно з рекомендованими нормами 2,5 тис. МО/кг, не впливає на показники яєчної продуктивності, за винятком незначного збільшення маси жовтка та шкаралупи.

Результати висвітлено у публікаціях [12, 13, 18].

3.4. Виробнича перевірка

За результатами наукових дослідів проведено виробничу перевірку на 4-х групах курей-несучок кросу Хайсекс коричневий по 200 голів у кожній групі (табл. 3.53).

Таблиця 3.53

Економічна ефективність використання вапняку у годівлі курей-несучок

Показники	Групи курей-несучок			
	контроль (0-3 мм)	1 (до 1 мм)	2 (1-2 мм)	3 (2-3 мм)
Кількість курей-несучок у групі, голів	200	200	200	200
Середня несучість за період дослідів шт.	325,30	312,52	322,40	335,04
Вартість кормів на 1 гол. за період дослідів грн.	203,08	203,52	203,52	203,52
Затрати на 1 несучку за період дослідів, грн.	264,41	264,65	264,65	264,65
Собівартість 1 тис. яєць, грн.	812,82	846,83	820,87	789,91
Реалізаційна ціна 1000 яєць, грн.	950,00	950,00	950,00	950,00
Прибуток від реалізації на 1 несучку за, грн.	44,63	32,24	41,63	53,64
Рівень рентабельності,%	16,88	12,18	15,73	20,27
Вартість використаного вапняку на 1 гол. за період дослідів, грн.	6,58	7,02	7,02	7,02
Одержано продукції на одну несучку, грн	309,04	296,89	306,28	318,29
Одержано додаткової продукції на одну несучку, грн.	—	-12,15	-2,76	9,25

Виробничий дослід тривав з 18 до 72 тижня життя курей. Курей годували стандартним комбікормом ПК-18 у кількості 110 г на голову/добу

у період з 18 до 45 тижня життя і 120 г на голову/добу у період з 46 до 72 тижня життя. До комбікорму додавали вапняк Сокирянського родовища (Чернівецька область) у кількості 9 %, вміст Кальцію у раціоні становив 3,5 %.

Контрольна група отримувала у складі раціону відсів вапняку фракції до 3 мм, 1-а дослідна група вапняк фракції менше 1 мм, 2-а дослідна – 1–2 мм, 3-я дослідна — 2–3 мм.

У результаті виробничої перевірки встановлено, що найвища продуктивність досягається при введенні до комбікорму курей вапняку з розміром частинок 2-3 мм. Рівень рентабельності при цьому зростає з 16,88 до 20,27 %, порівняно з продуктивністю курей, які отримували вапняк стандартного фракціонування з розміром частинок 0-3 мм. Порівняно з контрольною групою, від курей, які отримували вапняк фракції 2-3 мм одержано додатково 9,25 грн прибутку на одну несучку.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Кури-несучки мають підвищену потребу у Кальції, що зумовлено великими його втратами на формування шкаралупи яєць. Регулювання забезпечення організму курей Кальцієм здійснюють декількома способами. Це контроль загального вмісту Кальцію у раціоні, підбір оптимального розміру частинок кормових джерел Кальцію, встановлення світлового режиму приміщень для забезпечення більш рівномірного надходження та засвоєння Кальцію [41, 57, 61, 63, 64, 71, 76, 272].

Метою наших досліджень було встановлення метаболічної та продуктивної дії згодовування курям-несучкам вапняку з різним розміром частинок при незмінній кількості Кальцію у раціоні. З годівельної точки зору оптимальнішим було б використання суміші різних фракцій, проте це ускладнило б інтерпретування біохімічних показників, що цікавило нас у першу чергу.

Позитивний вплив згодовування курям крупнішої фракції вапняку пояснюється тривалішим її перебуванням у травному каналі, внаслідок чого всмоктування Кальцію відбувається відносно рівномірно протягом доби [59, 60]. Оскільки шкаралупа яйця значним чином формується вночі, надходження у цей час у кров'яне русло Кальцію сприяє більш ефективному субстратному забезпеченню цього процесу і зменшує використання Кальцію кісткової тканини [200, 215]. Крім того, крупні частинки вапняку сприяють кращому подрібненню корму в м'язовому шлунку курей.

Аналіз наукової літератури свідчить, що вплив фракції джерела Кальцію у раціоні курей-несучок на яєчну продуктивність та споживання корму нестабільний. Згідно ряду дослідників, збільшення розміру кормових частинок не впливає суттєво на несучість та вагу яйця [209]. В інших досліджах встановлено зростання несучості [148, 200] і ваги яєць [215].

Біохімічні показники крові курей змінюються з віком [4, 31, 34, 38, 149]. Зокрема, з 20- до 68-го тижнів життя у плазмі крові курей у межах фізіологічної норми знизилась концентрація загального білка та глюкози. При цьому, вікова динаміка цих змін дещо відрізнялась. Вміст загального білка знижувався поступово з віком, залежно від періоду продуктивності. Вміст глюкози у плазмі крові наприкінці першого періоду не відрізнявся від показників, отриманих на початку яйцекладки, тоді як наприкінці другого періоду продуктивності він дещо зменшився. Причиною зниження концентрації загального білка та глюкози у плазмі крові курей-несучок можуть бути як вікові особливості обміну речовин, так і виснаження організму внаслідок значних витрат субстратних ресурсів на продукування яйця.

Протягом усього дослідження не виявлено статистично вірогідних вікових змін у вмісті загальних ліпідів плазми крові, хоча й спостерігалась певна тенденція до його зростання на 44-му тижні життя. Разом з тим, виявлені зміни у вмісті деяких класів ліпідів. Зокрема, вміст триацилгліцеролів позитивно корелював з вмістом загальних ліпідів. Крім того, з віком у плазмі крові курей збільшувався вміст загального холестеролу, для цього показника ми спостерігали поступове збільшення протягом дослідження.

Вміст неестерифікованих жирних кислот у плазмі крові не залежав від віку курей.

Отже, вікові зміни вмісту загальних ліпідів, викликані саме більшою кількістю триацилгліцеролів та холестеролу. Ми не визначали вмісту у плазмі крові ще одного великого класу ліпідів — фосфоліпідів. Проте, вміст фосфоліпідів плазми навряд чи може суттєво вплинути на склад загальних ліпідів, оскільки фосфоліпіди, як структурний елемент мембран ліпопротеїнів, найстабільніший компонент ліпідної фракції.

Концентрація 25-ОН вітаміну D₃ у сироватці крові курей-несучок усіх груп зростала на 44-й тиждень життя, а на 68-му тижні знову знижувалась,

повертаючись до рівня 20-го тижня. При цьому, концентрація Кальцію у сироватці крові змінювалась дещо інакше. Вміст як загального, так й іонізованого Кальцію у сироватці крові курей зростав з віком і був найвищим наприкінці досліду. Отже, нами не встановлено прямої залежності між концентраціями 25-ОН вітаміну D₃ та Кальцію. На відміну від Кальцію, вміст Фосфору у сироватці крові зменшувався з віком. Внаслідок цього, протягом дослідного періоду у крові курей зростало співвідношення Кальцію до Фосфору. З віком у плазмі крові курей зростала активність лужної фосфатази, що узгоджується зі зменшенням концентрації Фосфору. Отже, протягом періоду яйцекладки засвоєння Фосфору крові клітинами організму посилювалось.

Згідно літературних даних, як концентрація Кальцію та Фосфору, так і співвідношення Ca:P у крові несучок коливається у широких межах [65, 205, 217]. Значно різняться також дані різних дослідників щодо вікової динаміки концентрації Кальцію та Фосфору у крові курей. Згідно результатів досліджень одних авторів, вміст Кальцію у крові курей протягом періоду яйценосності зростає [149, 205], згідно інших — зменшується. Подібна ситуація й з умістом Фосфору. У одних дослідах концентрація Фосфору в крові курей-несучок з віком зростає [248], а у інших — знижується.

Збільшення розміру фракції вапняку у раціоні курей незначно впливало на концентрацію загального білка у плазмі крові. Хоча й деякі зі змін були статистично вірогідними, проте кількісно вони несуттєві. Тим не менш, помітна помірна тенденція до зниженні концентрації білка плазми за збільшення розміру вапняку, що статистично вірогідно на 44-му тижні життя.

Вміст глюкози у плазмі крові за збільшення розміру фракції вапняку, навпаки, зростав. Такий вплив спостерігався протягом усього досліду, причому концентрація глюкози зростала при збільшенні розміру частинок вапняку з 1 мм до 2 мм, тоді як подальше збільшення фракції вапняку до 3 мм суттєвого впливу на вказаний показник не мало. Разом з тим,

підвищення концентрації глюкози у плазмі крові виявлено лише на початку і у середині продуктивного періоду курей (на 20- і 44-му тижнях життя). На 68-му тижні, коли рівень глюкози у крові курей був найнижчим, розмір частинок згодовуваного вапняку на вказаний показник не впливав. Отже, у найкритичніший для обміну речовин період останніх тижнів яйцекладки розмір вапняку не сприяв стабілізації обміну глюкози.

Натомість, на 68-тижні у плазмі крові курей, які отримували вапняк розміром 2-3 мм, значно зріс вміст триацилгліцеролів ($p < 0,01$). Можливо, це компенсаторна реакція на зниження концентрації глюкози, оскільки обидва види сполук є субстратами енергетичних процесів. Завдяки різкому збільшенню у плазмі крові курей, які отримували крупнішу фракцію вапняку, кількості триацилгліцеролів у останні тижні продуктивного циклу (середнє за весь період продуктивності значення) їх вмісту у крові курей цієї групи також було вірогідно більшим ($p < 0,05$). У цьому контексті може видатись нелогічним відсутність впливу фракції вапняку на концентрацію нестерифікованих жирних кислот плазми крові. Проте слід враховувати, що лише незначна частка НЕЖК безпосередньо використовується в енергетичних процесах, основна ж їх частина надходить у печінку, де естерифікується до триацилгліцеролів і у складі ліпопротеїнів дуже низької щільності транспортується до тканин для забезпечення енергетичних потреб.

Збільшення розміру частинок вапняку призвело до зростання у плазмі крові курей концентрації загального холестеролу ($p < 0,05-0,01$). Однозначно пояснити таку дію важко, можливі декілька опосередкованих механізмів. Зростання у крові вмісту триацилгліцеролів свідчить про більшу кількість ліпопротеїнів дуже низької щільності, а оскільки холестерол також є компонентом ліпопротеїнів, не виключено, що його збільшення пов'язане саме з цим. Проте, вміст триацилгліцеролів зростав наприкінці продуктивного періоду, а вміст холестеролу був більший протягом усього періоду продуктивності. Іншим поясненням може бути зв'язок обміну

холестеролу з обміном вітаміну D, концентрація якого помірно, але статистично вірогідно зростала зі збільшення розміру фракції згодовуваного вапняку ($p < 0,01$).

Внаслідок збільшення у складі раціону курей розміру частинок вапняку у сироватці їх крові зросла концентрація Кальцію, причому такий ефект спостерігався протягом усього терміну дослідження. Оскільки вміст Кальцію у раціоні курей всіх груп однаковий, вказані зміни можуть бути наслідком більш ефективного всмоктування Кальцію у кишечнику. Це пов'язано з тим, що дрібна фракція вапняку (чи іншого джерела Кальцію) занадто швидко проходить через травний тракт птиці, не встигаючи повністю засвоїтись. Крупні частинки вапняку довше затримуються у м'язовому шлунку, поступово надходячи у кишечник, внаслідок чого засвоєння Кальцію відбувається повніше [59, 60]. Таким чином, за використання крупніших частинок вапняку птиця, по-суті, отримує з раціоном більшу кількість Кальцію, що відбивається на його концентрації у крові. Важливо, що така ж тенденція була характерна й для концентрації у сироватці крові іонізованого Кальцію, оскільки саме ця форма є метаболічно активною і використовується організмом для синтезу шкаралупи яєць.

Концентрація Фосфору у сироватці крові курей усіх трьох дослідних груп не залежала від розміру частинок вапняку, за винятком 20-тижня життя, коли вміст Фосфору у сироватці дещо збільшився. Внаслідок цього, за використання крупнішої фракції вапняку зростало співвідношення Кальцію до Фосфору.

За збільшення розміру кормових частинок вапняку у сироватці крові курей знижувалась концентрація Магнію ($p < 0,05-0,01$).

Для курей характерне збільшення маси яєць протягом продуктивного періоду [226, 241, 253, 274]. При цьому у складі яйця зростає вміст білка, жовтка та шкаралупи, проте ці зміни не пропорційні змінам маси яйця, тому у відсотковому відношенні зростає лише частка жовтка, тоді як частка білка

дещо зменшується, а частка шкаралупи переважно не змінюється [110, 226, 233, 241, 249, 253, 274]. Ці особливості пояснюються тим, що маса білка та шкаралупи зростає пропорційно масі яйця, а маса жовтка збільшується істотніше, що детерміновано генетично і має породні особливості [249, 274].

У наших дослідженнях ми отримали подібні результати. В курей усіх груп протягом досліду збільшувалась маса яйця, на 68-му тижні життя вона перевищувала показник 20-го тижня на 10,11, 15,12 і 15,15 % у 1-й, 2-й і 3-й дослідних груп відповідно. Отже, згодовування курям вапняку фракцій 1–2 та 2–3 мм сприяло більш інтенсивному збільшенню маси яєць, порівняно до згодовування їм вапняку розміром менше 1 мм. Зростання маси яєць під впливом згодовування крупніших фракцій вапняку не спостерігалось до 24-го тижня, з 28-го тижня вона поступово починала зростати, а найбільші різниці виявлено у другу фазу продуктивності ($p < 0,05–0,01$). Таким чином, використання вапняку розміром 1–2 і 2–3 мм сприяє отриманню більшого виходу яєчної маси, ніж використання дрібнішої фракції. Однозначно пояснити ці зміни важко, причиною може бути краще засвоєння корму за використання крупної фракції вапняку, завдяки її абразивній дії, або ж ефективніше забезпечення організму курей Кальцієм, внаслідок більш повного його всмоктування у кишечнику.

Маса білка, жовтка та шкаралупи яєць збільшується з віком [195, 226, 241, 249, 253, 274]. У курей, яким згодовували вапняк розміром до 1, 1–2 та 2–3 мм маса білка протягом досліду збільшилась на 10,61, 11,56 і 12,88 %, а маса жовтка — на 14,25, 27,53 і 23,73 %. З наведених даних випливає, що згодовування курям різних фракцій вапняку не впливало суттєво на масу білка, тоді як маса жовтка значним чином залежала від розміру частинок вапняку, і зростала при їх збільшенні понад 1 мм. Це підтверджується міжгруповим порівнянням вказаних показників. За масою білка не виявлено вірогідних різниць між групами на жодному з етапів досліду, за винятком 56-го тижня, хоча середня за дослід маса білка виявляла тенденцію до

збільшення зі збільшенням розміру частинок вапняку. Натомість маса жовтка яєць курей, яким годували вапняк розміром 2–3 мм, була вірогідно більшою за масу жовтка яєць курей, яким годували вапняк розміром менше 1 мм майже на усіх етапах досліду ($p < 0,05$ – $0,001$).

Розмір частинок вапняку впливав на масу шкаралупи. Маса шкаралупи зростала з віком лише у курей 2-ї та 3-ї груп, які отримували вапняк розміром, відповідно, 1–2 та 2–3 мм, тоді як яйця курей, що отримували вапняк фракції менше 1 мм мали стабільну вагу шкаралупи протягом усього досліду. Порівняно до 1-ї групи, у курей 2-ї та 3-ї груп у середньому за дослід маса шкаралупи була більшою на 5,16 та 3,49 %. Разом з тим, слід мати на увазі, що зміни маси шкаралупи статистично не вірогідні і при перерахунку на відсоток від маси яйця маса шкаралупи не змінювалась.

З віком шкаралупа яєць курей усіх груп ставала тоншою, причому найбільше стоншення було у групі, яка отримувала найдрібнішу фракцію вапняку. Зокрема, у 1-й, 2-й та 3-й групах товщина шкаралупи протягом досліду зменшилась на 15,93, 5,73 і 3,39 %. Згідно даних інших дослідників, збільшення розміру фракції вапняку у раціоні курей збільшує товщину шкаралупи яєць [130, 206, 243], що підтвердилось й нашими дослідженнями, точніше, при збільшенні розміру частинок вапняку стоншення шкаралупи зменшувалось.

При аналізі цих даних звертає на себе увагу певна невідповідність — шкаралупа стає тоншою при збільшенні маси. Очевидно, це пов'язано зі зменшенням органічної складової шкаралупи, внаслідок чого вона стає щільнішою. На жаль, ми не досліджували вказаного показника, проте побічним підтвердженням цього припущення слугує помірне зростання у шкаралупі з віком вмісту Кальцію, який є основним неорганічним компонентом шкаралупи. Разом з тим, результати наших досліджень показали, що зміна розміру частинок вапняку незначно впливає на вміст Кальцію у шкаралупі яєць. Додатковим підтвердженням цього припущення є

зменшення з віком міцності шкаралупи, яка у курей 1-ї, 2-ї та 3-ї груп з 20- до 68-тижневого віку зменшилась, відповідно, на 24,07, 16,99 і 13,61 %. Як відомо, неорганічні речовини шкаралупи забезпечують твердість, а органічні — еластичність. Отже, при зменшенні органічних компонентів шкаралупа стає твердішою, але більш крихкою, внаслідок чого зменшується її міцність. Крім того, міцність шкаралупи залежить також від вмісту у ній Магнію, а саме при збільшенні вмісту Магнію вона стає менш міцною. У нашому досліді шкаралупа яєць курей, які отримували вапняк розміром до 1 мм, з віком містила дедалі більшу кількість Магнію, вміст Магнію у шкаралупі яєць курей, які отримували вапняк фракції 1-2 мм з віком зростав незначно, а шкаралупа яєць курей, яким згодовували вапняк фракції 2–3 мм містила незмінну Магнію протягом усього періоду продуктивності. Внаслідок цього, на 68-му тижні життя вміст Магнію у шкаралупі яєць курей 2-ї та 3-ї груп був на 4,82 та 7,93 % меншим, ніж у шкаралупі яєць курей 1-ї групи. Отже, збільшення розміру частинок вапняку не вплинуло на вміст Кальцію у шкаралупі, але попередило накопичення у ньому Магнію, що сприяло збільшенню міцності шкаралупи.

Дослідження складу жовтка яєць не показали суттєвих вікових та міжгрупових відмінностей у вмісті загального білка, Кальцію та Фосфору. Вміст загальних ліпідів у жовтку переважно не відрізнявся, хоча на окремих етапах він незначно, але статистично вірогідно збільшувався при збільшенні розміру частинок згодовуваного вапняку. Різниці виявлено у ліпідному складі. Зокрема, у жовтку курей з віком зростав вміст триацилгліцеролів, який у 1-й, 2-й та 3-й групах наприкінці досліді був на 19,12, 20,41 і 24,43 % більшим, ніж на початку.

Згідно літературних даних з віком у жовтку яєць курей зменшується вміст холестеролу [93, 160]. Ми отримали подібні результати, вміст холестеролу у жовтку курей 1-ї, 2-ї та 3-ї груп протягом досліді зменшився

на 19,84, 20,48 і 21,79 %. Розмір частинок згодовуваного курям вапняку на вміст холестеролу в жовтку яєць не впливав.

Метою наступних досліджень було вивчити вплив різних доз вітаміну D₃ на обмін речовин у курей-несучок. На перший погляд, дія вітаміну D₃ досить глибоко вивчена, проте це стосується лише регуляції обміну Кальцію і Фосфору та пов'язаних з ними процесами формування кісткової тканини [60, 62, 79, 88, 90, 94, 115, 124, 125, 126, 135, 136, 167, 193, 235]. Паракринна та автокринна дія вітаміну D₃, яка проявляється у впливі на імунний статус та деякі інші аспекти метаболізму, зокрема проліферацію та диференціацію клітин, досліджена значно менше, причому такі дослідження виконані переважно на лабораторних тваринах [51, 85, 104, 151, 165, 190, 218]. Аналізуючи наукову літературу, ми не знайшли інформації про дію вітаміну D на імунний статус птиці. У дослідженні цього питання й полягає наукова новизна нашої роботи.

Для цього ми виконали 2 досліді, у першому з яких додавали до раціону курей-несучок 1250, 2500 і 3750 МО вітаміну D₃, а у другому вводили в раціон вітамін D₃ у кількості 2500, 5000 і 10000 МО на 1 кг сухої речовини корму. Слід зазначити, що на даний час максимально дозволений вміст вітаміну D у раціонах курей становить 3000 МО/кг. Проте, результати досліджень останніх років показали надзвичайно низьку чутливість курей до токсичної дії вітаміну D при його передозуванні. Згідно з цими дослідженнями, кури без будь-яких негативних наслідків витримують згодовування вітаміну D у кількості 100 тис. МО на кілограм корму [211, 271].

Вплив вітаміну D на імунну функцію значним чином залежить від дози, що зумовлено особливостями його обміну у клітинах імунної системи. У більшості клітин організму наявний механізм блокування 1- α -гідроксилази при утворенні надлишку 1,25(OH) D₃, внаслідок чого синтез останнього мало залежить від концентрації попередників. В клітинах імунної системи цей

механізм відсутній, тому активна форма — 1,25(OH) вітамін D₃ синтезується у них у більшій кількості [85, 91, 111-113, 152, 165, 190, 203, 218, 255, 263, 275]. Саме наявність такої особливості було причиною дослідження нами впливу високих доз вітаміну D₃ на імунну функцію організму курей.

Згідно результатів наших досліджень, збільшення кількості введення до раціону вітаміну D₃ з 1250 до 2500 та 3750 МО/кг, вплинуло на лейкоцитарну формулу курей-несучок, а саме — на частку нейтрофілів та моноцитів. Частка моноцитів зростала лінійно із збільшення дози вітаміну, а нейтрофілів — при збільшенні дози до 2500 зменшилась, а при підвищенні дози до 3750 — зросла ($p < 0,05$). Аналізуючи вказані зміни, слід враховувати, що загальна кількість лейкоцитів у крові курей при додаванні до раціону 3700 МО/кг вітаміну D₃ вірогідно зменшилась ($p < 0,05$). Отже, абсолютна кількість нейтрофілів та моноцитів за вказаних доз вітаміну D₃ змінювалась незначно. Проте, у крові курей, які отримували з раціоном 3700 МО/кг вітаміну D₃, порівняно до курей, що отримували вказаний вітамін 1250 та 2500 МО/кг, спостерігалось зростання фагоцитарної активності. Отже, незважаючи на незначні зміни кількості відповідальних за фагоцитоз клітин, фагоцитарна активність збільшилась. Такий ефект не може бути пов'язаний з нейтрофілами, оскільки вони руйнуються разом з антигеном. Натомість моноцити перетворюються у макрофаги, які діють багаторазово, тому зростання фагоцитарної активності викликано, очевидно, більшою активністю саме цього типу клітин крові.

В іншому досліді курям-несучкам згодовували вітамін D₃ у значно більшій за рекомендовану, але значно меншій за токсичну дозу (2500, 5000 і 10000 МО/кг комбікорму) для встановлення впливу високих доз вітаміну D₃ на неспецифічну резистентність та обмін речовин у цілому.

Кількість лейкоцитів у крові курей у цьому досліді зменшувалась із збільшенням дози вітаміну D₃ ($p < 0,05$), причому це відбувалось, головним чином, за рахунок лімфоцитів ($p < 0,05-0,01$). Ми не визначали показники

специфічного імунітету, тому не можемо стверджувати однозначно, але зменшення кількості лімфоцитів може свідчити про пригнічення цієї ланки імунного захисту організму. З іншого боку, у крові курей при збільшенні дози згодовування вітаміну D₃ з 2500 до 10000 МО/кг збільшувалась кількість клітин, які відповідають за неспецифічний імунітет: моноцитів на 60 % та нейтрофілів на 30 % ($p < 0,05-0,01$).

Отже, збільшення у складі раціону вмісту вітаміну D₃ до 10 тисяч на кілограм корму стимулює неспецифічну резистентність курей. Внаслідок збільшення кількості моноцитів і нейтрофілів зростає фагоцитарна активність крові. Крім того, у крові курей, які отримували велику кількість вітаміну D₃ виявлено підвищення бактерицидної активності ($p < 0,01$). Лізоцимна активність, яка є складовою частиною бактерицидної активності не змінювалась. Крім лізоцимної активності, бактерицидна активність сироватки крові представлена сумарною дією багатьох інших чинників: антитіл, системи комплементу, бета-лізину, пропердину. Оскільки у крові курей, що отримували великі дози вітаміну D₃ зменшувалась кількість лімфоцитів, антитіла скоріш за все також не могли вплинути на зростання бактерицидної активності сироватки крові. Отже, зростання бактерицидної активності не пов'язане з дією антитіл та лізоциму, а викликане якимось іншим чинником. Таким чином, збільшення у раціоні курей кількості вітаміну D₃ посилює неспецифічний імунітет, і не стимулює специфічну його ланку.

У той же час, підвищення кількості вітаміну D₃ до 5 і, особливо, 10 тисяч збільшувало чисельність еритроцитів та кількість гемоглобіну. Отже, вітамін D стимулює кровотворну функцію у курей, що узгоджується з даними, отриманими у дослідях на лабораторних тваринах.

Збільшення вмісту вітаміну D₃ у раціоні курей з 1250 до 2500 та 3750 МО/кг пропорційно збільшувало концентрацію 25(OH) D₃ у плазмі крові. Натомість, згідно даних другого дослідження, підвищення кількості згодовуваного

курам вітаміну D₃ з 2500 до 5000 МО/кг не вплинуло на концентрацію 25(OH) D₃, а подальше збільшення вмісту D₃ у раціоні до 10000 МО/кг підвищило її удвічі ($p < 0,001$). Отже, концентрація 25(OH) D₃ у крові значним чином пов'язана з вмістом вітаміну D₃ у раціоні курей, проте ці зміни не завжди стабільні і залежать, очевидно, від інших чинників. Разом з тим, концентрація 25(OH) D₃ у крові курей усіх груп обох дослідів відносно низька (10-27 нг/мл). Виходячи із вказаного вище, можна зробити висновок, що збільшення вмісту вітаміну D₃ підвищує концентрацію 25(OH) D₃ у крові курей-несучок, проте цей вплив незначний порівняно до дії згодовування гідроксильованого вітаміну.

Збільшення кількості вітаміну D₃ в раціоні з 1250 до 3750 МО/кг підвищувало концентрацію загального Кальцію в плазмі крові курей, подальше додавання вітаміну D₃ 5000 та 10000 МО/кг концентрації загального Кальцію не змінювало. Цікаво, що підвищення концентрації загального Кальцію не супроводжувалось збільшенням кількості іонізованої його форми. Можливо, остання інтенсивно використовувалась організмом, зокрема для синтезу яєчної шкаралупи, проте це потребує подальших досліджень. Збільшення кількості вітаміну D₃ в раціоні курей з 1250 до 3750 МО/кг вплинуло на збільшення вмісту в плазмі крові сполук, задіяних у енергетичному обміні, тобто глюкози та жирних кислот. Концентрація у плазмі загального холестеролу, навпаки — знизилась ($p < 0,01$).

Відомо, що вітамін D₃ володіє антиоксидантною властивістю. Він інгібує пероксидне окиснення у мембранах, регулює утворення вільних радикалів, пригнічує активність індукцибельної NO-синтази, активує глутатіонпероксидазу та супероксиддисмутазу [118, 162, 174, 179, 237, 265]. У наших дослідження збільшення кількості вітаміну D₃ у раціоні курей-несучок також впливало на антиоксидантний стан, проте ефект був не завжди стабільний. При збільшенні у раціоні курей несучок вмісту вітаміну D₃ від 1250 до 2500 та 3750 МО/кг, спостерігалось зростання активностей

глутатіонпероксидази та супероксиддисмутази і зменшення концентрації продуктів пероксидного окиснення у крові, печінці, яйцепроводі та скелетному м'язі курей. Проте, при збільшенні вмісту вітаміну D₃ до 10000 МО/кг корму, активність глутатіонпероксидази знижувалась, хоча активність супероксиддисмутази продовжувала активуватись ($p < 0,05$). При цьому, не виявлено впливу на концентрацію продуктів пероксидного окиснення, більше того, концентрація ТБК-активних продуктів, дієнових кон'югатів та гідроперекисів ліпідів, хоча й статистично не вірогідно але зростала. Отже, за дуже великих доз вітаміну D₃ його антиоксидантна дія не проявляється.

При збільшенні у раціоні курей несучок вмісту вітаміну D₃ від 1250 до 2500 та 3750 МО/кг корму встановлено його вплив на жирнокислотний склад деяких тканин організму. Зокрема, у загальних ліпідах яйцепроводу та печінки курей-несучок, зменшувався вміст лінолевої і арахідонової кислот і зростав вміст олеїнової кислоти ($p < 0,05$). Такі зміни можуть бути пояснені взаємозалежністю всмоктування жирних кислот та вітаміну D₃ в кишечнику. Так, згідно даних літератури [196] за високого вмісту поліненасичених жирних кислот у раціоні людини погіршується засвоєння вітаміну D₃, а при високому вмісті мононенасичених жирних кислот засвоєння вітаміну D₃, навпаки — покращується. Отже, жирні кислоти раціону регулюють всмоктування вітаміну D₃. Можливо, існує зворотній ефект — регуляція вітаміном D₃ всмоктування жирних кислот різного ступеня насичення. З іншого боку, при збільшенні кількості вітаміну D₃ в комбікормі від 2500 до 5000 та 10000 МО/кг у жовтку яєць збільшувалась частка поліненасичених жирних кислот за рахунок зменшення насичених ($p < 0,05$). Отже, додатковим поясненням меншої кількості поліненасичених жирних кислот у печінці та яйцепроводі може бути більш інтенсивне їх використання у синтезі ліпідів жовтка. Остаточне з'ясування причин цих різниць потребує подальших досліджень.

Кількість вітаміну D₃ в раціоні впливала на хімічний склад яєць курей. Зокрема, у жовтку зі збільшенням кількості вітаміну зростав вміст триацилгліцеролів та холестеролу ($p < 0,01$). Однозначно інтерпретувати ці зміни важко, проте можливо висунути деякі припущення. Збільшення вмісту триацилгліцеролів у жовтку можна було б пояснити більшою концентрацією триацилгліцеролів і вільних жирних кислот у крові курей, які отримували більшу кількість вітаміну D₃. Проте, зростання концентрації цих сполук у плазмі крові спостерігалось лише при збільшенні кількості вітаміну D₃ у комбікормі з 1250 до 3750 МО/кг, а збільшення вмісту триацилгліцеролів у жовтку виявлено і за введення до раціону 5 та 10 тисяч МО вітаміну D₃.

Збільшення кількості вітаміну D₃ в раціоні впливало на вміст деяких мінеральних елементів у жовтку яєць. У першу чергу, це стосується Кальцію, вміст якого зростав зі збільшенням кількості вітаміну D₃, що пояснюється безпосередньою участю цього вітаміну в обміні цього елемента. Крім того, при збільшенні у складі комбікорму кількості вітаміну D₃ у жовтку зменшився вміст Цинку. На склад білка яєць збільшення у раціоні курей вмісту вітаміну D₃ суттєво не вплинуло, за винятком зростання вмісту Кальцію та Фосфору за дуже високих доз вітаміну (5 та 10 тис. МО/кг).

Збільшення у раціоні курей вмісту вітаміну D₃ істотно вплинуло на склад шкаралупи яєць. У шкаралупі статистично вірогідно зростала кількість Кальцію та білка. Обидва вказані компоненти шкаралупи відповідають за її міцність: Кальцій забезпечує твердість, а від протеїнових сполук залежить її крихкість. Завдяки таким змінам, міцність шкаралупи зростала при збільшенні кількості вітаміну D₃ від 1250 до 3750 МО/кг корму. Подальше збільшення в раціоні курей вмісту вітаміну D₃ не впливало на міцність шкаралупи яєць.

За збільшення в раціоні вітаміну D₃ від 1250 до 2500 та 3750 МО/кг на 5 % зростала маса яйця курей за рахунок збільшення маси жовтка ($p < 0,05-0,01$), причому маса яйця за дози вітаміну 2500 та 3750 МО/кг була

однаковою. Отже, збільшення вмісту вітаміну до 3750 МО/кг корму на збільшення маси яєць не впливало. Не виявлено також змін маси яєць при згодовуванні курям ще більших кількостей вітаміну — 5000 та 10000 МО/кг. Не виявлено впливу вмісту вітаміну на несучість курей, за усіх доз вона була однаковою.

Таким чином, для забезпечення максимальної яєчної продуктивності та міцності шкаралупи достатньо наявності у кормі курей 2500 МО/кг вітаміну D₃. Разом з тим, виявлений нами вплив високих доз вітаміну D₃ на імунну функцію курей вказує на можливість їх використання у певні фізіологічні періоди для регулювання резистентності організму.

ВИСНОВКИ

Досліджували вплив введення вапняку з розміром частинок менше 1, 1-2 і 2-3 мм до раціону курей-несучок з 20- до 68-тижневого віку на показники обміну речовин у крові, склад яєць і яєчну продуктивність у віковій динаміці. Досліджували метаболічну та продуктивну дію згодовування курям-несучкам різних кількостей вітаміну D₃.

1. Із 20- до 68-тижневого віку в крові курей-несучок знижується вміст загального білка, глюкози, триацилгліцеролів і неорганічного фосфору та зростає вміст загального холестеролу, загального кальцію і Магнію. З віком зростає маса яйця за рахунок більшої маси жовтка. Товщина і міцність шкаралупи при цьому зменшуються.

2. Концентрація глюкози в плазмі крові курей, які отримували вапняк розміром 1–2 і 2–3 мм на 5,99 і 5,16 % ($p < 0,05$) переважала відповідний показник курей, які отримували вапняк розміром до 1 мм. Концентрація триацилгліцеролів збільшувалась лише у плазмі крові курей 3-ї групи ($p < 0,05$). Згодовування вапняку фракції 2–3 мм супроводжувалося збільшенням концентрації загального холестеролу у плазмі крові ($p < 0,01$).

3. При збільшенні розміру частинок вапняку в сироватці крові зростав вміст загального кальцію, який у курей 2-ї групи був на 8,58 %, а у курей 3-ї групи — на 10,38 % більшим, ніж у курей 1-ї групи ($p < 0,01$). Не виявлено впливу розміру частинок вапняку на вміст неорганічного фосфору. При цьому співвідношення Ca/P зростало у курей 2-ї і 3-ї груп на 44- та 68-му тижнях ($p < 0,05$). Вміст Магнію в сироватці крові зменшувався зі збільшенням фракції вапняку ($p < 0,01$).

4. На 44-й тиждень життя у сироватці крові курей зростала, порівняно з 20-м тижнем, концентрація 25-ОН вітаміну D₃, а на 68-й тиждень його концентрація знижувалася до рівня 20-го тижня. Така вікова динаміка характерна для усіх трьох груп, незалежно від розміру частинок вапняку

в раціоні. Із збільшенням розміру частинок вапняку концентрація 25-ОН вітаміну D₃ зростала ($p < 0,05$).

5. У середньому за дослід маса яєць курей 2-ї та 3-ї груп була на 3,09 і 6,69 % більшою, ніж у курей 1-ї групи. Маса шкаралупи яєць курей, які отримували вапняк розміром до 1 мм не змінювалася з віком. За період дослідів маса шкаралупи яєць курей 2-ї і 3-ї груп перевищила показник курей 1-ї групи на 5,16 і 3,49 %.

6. Вміст Кальцію у шкаралупі курей усіх трьох груп різнився незначно. Вміст Фосфору в шкаралупі яєць курей 2-ї і 3-ї груп був на 2,68 і 5,36 % більшим, ніж у шкаралупі яєць курей 1-ї групи. За збільшення розміру вапняку знижувався вміст Магнію у шкаралупі.

7. Збільшення розміру частинок вапняку запобігало зменшенню товщини шкаралупи з віком. Товщина шкаралупи курей 2-ї і 3-ї груп була на 4,15 і 6,82 % більшою ($p < 0,01$), ніж у курей 1-ї групи. Міцність шкаралупи яєць курей, які отримували вапняк розміром 2-3 мм була на 6,02 % більшою, ніж у курей, яким згодовували вапняк розміром до 1 мм ($p < 0,05$).

8. Збільшення в раціоні вмісту вітаміну D₃ дозозалежно підвищувало концентрацію 25-ОН D₃ у сироватці крові ($p < 0,001$). Збільшення кількості вітаміну D₃ у раціоні до 3750 МО/кг підвищувало концентрацію Кальцію, загальних ліпідів і триацилгліцеролів та знижувало концентрацію холестеролу ($p < 0,05$) у плазмі крові. Подальше збільшення доз вітаміну D₃ до 5 тис. і 10 тис. МО на вказані показники не вплинуло.

9. Підвищення вмісту вітаміну D₃ понад 3750 МО/кг корму збільшувало кількість еритроцитів і концентрацію гемоглобіну ($p < 0,05$). Для лейкоцитів спостерігали зворотній ефект — їх кількість зменшувалася, за рахунок меншої кількості лімфоцитів. При цьому зростала кількість псевдоеозинофілів і моноцитів, посилювалась фагоцитарна та бактерицидна активність крові ($p < 0,05-0,001$).

10. За збільшення у раціоні курей вмісту вітаміну D₃, у ліпідах печінки зростала частка насичених і мононенасичених та зменшувалася частка поліненасичених жирних кислот ($p < 0,01-0,001$), у яйцепроводі зменшувалась частка мононенасичених і зростала частка поліненасичених жирних кислот; у жовтку зменшувалась частка насичених і зростала частка поліненасичених жирних кислот ($p < 0,05$).

11. За збільшення кількості згодовуваного курям вітаміну D₃ до 3750 МО/кг корму знижувалась концентрація продуктів пероксидного окиснення у плазмі крові ($p < 0,05-0,001$), не впливаючи при цьому на активність антиоксидантних ензимів. Подальше збільшення вмісту вітаміну D₃ до 5 тис. і 10 тис. МО/кг не впливало на показники антиоксидантного статусу.

12. Збільшення кількості вітаміну D₃ в раціоні курей підвищувало вміст триацилгліцеролів, холестеролу і Кальцію у жовтку яєць ($p < 0,05-0,001$). Збільшення кількості вітаміну D₃ в раціоні з 1250 до 3750 МО/кг не вплинуло на несучість, проте маса яєць зросла на 4,69–5,54 % за рахунок більшої маси жовтка і шкаралупи. Згодовування вітаміну D₃ у кількості понад 3750 МО/кг не вплинуло на яйценосність, масу яйця та склад і міцність шкаралупи.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

У птахівництві до складу раціону птиці вводять Кальцій у складі вапняку без урахування розміру частинок добавки. Для підвищення яєчної продуктивності, збільшення міцності шкаралупи яєць та покращення їх біологічної цінності рекомендується згодовувати курам-несучкам вапняк фракції 2–3 мм.