УДК 636.082.47

Л.П. Харченко[1], І.О. Ликова[2]
Харківський національний педагогічний університет імені Г.С. Сковороди
вул. Валентинівська, 2, Харків, 61168, Україна
[1]harchenko.lp@yandex.ua , [2]irina.lykowa@yandex.ua

СТАНОВЛЕННЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО АПАРАТУ ТРАВНОЇ СИСТЕМИ ПТАХІВ У ПРЕНАТАЛЬНОМУ І РАННЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ

У статті наведені результати дослідження щодо становлення ферментативного апарату травної системи птахів на прикладі курей породи род-айленд у пренатальний та ранній постнатальний періоди онтогенезу.

Установлено активність протеолітичних, амілолітичних, ліполітичних ферментів, які забезпечують як порожнинне, так і пристінкове травлення. Проаналізовано зміну активності ферментів у залежності від доби інкубації та формування травних залоз. Виявлено активність ферментів на різних етапах ембріогенезу і раннього постембріогенезу, установлено, що на останніх етапах пренатального розвитку підвищується активність ферментів підшлункової залози та печінки, що свідчить про готовність травної системи до травлення. У процесі досліджень виявлені особливості деяких ферментів підшлункової залози та печінки. Так, активність протеаз печінки на момент вилуплення збільшується у понад 4,5 рази. Активність α- і γ-амілаз відмічена тільки на 15-у добу інкубації. Максимальні показники амілолітичної активності у клітинах печінки відмічені в ембріонів на 14-у добу інкубації. Установлено, що, на відміну від амілолітичних і протеолітичних ферментів, активна евакуація ліпази із підшлункової залози у дванадцятипалу кишку спостерігається тільки на момент вилуплення. Найбільш висока активність ліпази печінки відмічена у період вилуплення, що пов'язано з переключенням ембріонів на внутрішньокишкове травлення.

Отже, результати дослідження показали, що становлення ферментативного апарату травної системи, який забезпечує як порожнинне, так і пристінкове травлення, відбувається вже в пренатальному періоді онтогенезу. Активність більшості ферментів зростає до кінця пренатального періоду онтогенезу – на момент вилуплення, коли травна система практично готова до процесу травлення.

Ключові слова: *птахи, травна система, ферментативний апарат, протеази, амілази, ліпази, ембріогенез, ранній постембріогенез.*

Вступ. До особливостей травлення у птахів належить: 1) підвищена концентрація ферментів в одиниці об'єму і висока їх активність у підшлунковій залозі порівняно із ссавцями [2]; 2) відсутність дуоденальних залоз; 3) лабільність процесів травлення і власне ферментативного апарату, пов'язана із сезонною зміною кормів, міграціями і кочівлями птахів; 4) висока ефективність процесів всмоктування поживних речовин завдяки складній архітектоніці рельєфу кишечника [8].

© Л. Харченко, І. Ликова

По мірі накопичення фактичного матеріалу щодо морфології травної системи з'явилося розуміння того, що деякі особливості будови травної системи неможливо пояснити без даних про особливості самого процесу травлення та всмоктування поживних речовин. Літературні дані відносно біохімічних процесів травлення у більшості випадків фрагментарні і не завжди можуть бути використані для аналізу травної системи диких видів птахів [5, 3]. З'явилася потреба дослідити становлення ферментативного апарату в пренатальному і ранньому постнатальному періодах онтогенезу у птахів.

Мета нашого дослідження – з'ясувати становлення ферментативного апарату птахів у пренатальному періоді й ранньому етапі постнатального періоду онтогенезу.

Матеріали і методи дослідження. Досліджувалася активність ферментів, які реалізують порожнинне й мембранне травлення, тобто початкові й заключні етапи гідролізу поживних речовин в організмі. Використовувалися класичні біохімічні методи вивчення активності ферментів підшлункової залози, печінки, слизової оболонки шлунка й кишечнику в ембріонів.

Протеолітичну активність ферментів визначали спектрофотометричним методом при довжині хвилі 280 нм [1] за гідролізом казеїну в гомогенатах зазначених вище органів.

Активність α-амілази визначали фотометричним методом [7] за зниженням йод-крохмального забарвлення у гомогенатах зазначених вище органів (залежно від органу враховувалося розведення гомогенатів від 10 до 300 разів) з використанням як субстрату 0,02% розчину крохмалю, виготовленого на 0,1 М фосфатному буфері (pH=7,1). Метод заснований на калориметричному визначенні зменшення вмісту крохмалю, що змінює фарбування йод-крохмальних компонентів при його ферментативному гідролізі.

Ліполітичну активність визначали методом об'ємного титрування, що заснований на гідролізі жирів і зміщенні pH у кисле середовище [6] з використанням як субстрату трибутирину. Гідроліз проводили при 37±0,1°С протягом 60 хвилин. Реакцію зупиняли додаванням абсолютного етилового спирту. Продукти гідролізу, жирні кислоти, що вивільнялися, відфільтровували 0,05 М NaOH за наявності фенолфталеїну. Активність ліпази виражали в мкМ гідролізованого трибутирину на 1 г тканини за хвилину.

При вивченні становлення ферментативного апарату й динаміки рівня активності травних ферментів в ембріогенезі дослідження проводили на ембріонах курей породи род-айленд. Для дослідження відбиралися ембріони курей щодня, починаючи з 9 доби інкубації, через кожні 12 годин до вилуплення. Кожного дня інкубації відбиралося стільки ембріонів, скільки необхідно було для того, щоб взяти наважку підшлункової залози, печінки, слизової оболонки кишечнику. Вилученим ембріонам проводили декапітацію, розтинали черевну порожнину, вилучали зазначені вище органи, промивали холодним фізрозчином, готували гомогенати на охолодженому 0,1 М фосфатному буфері різного pH і визначали активність травних ферментів раніше описаними методами.

Результати та їх обговорення. Результати наших досліджень на прикладі курей протеолітичної активності ферментів в органах травної системи ембріонів і добових пташенят представлені на рис. 1.

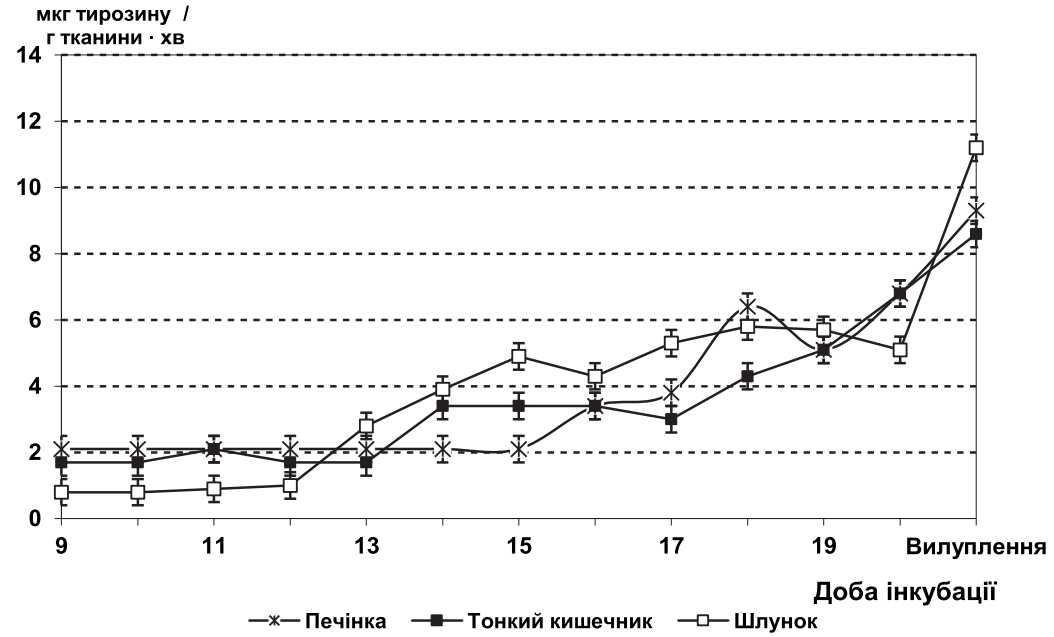

Рис. 1. **Динаміка активності протеолітичних ферментів у ембріонів і добових пташенят.**

Визначення активності протеолітичних ферментів було розпочато з 9-ї доби інкубації. На цей період найменша протеолітична активність в ембріонів курей була виявлена у слизовій оболонці шлунка, що свідчить про готовність тільки частини залозистих клітин шлунка виробляти травний фермент – пепсин. Ця активність залишається постійною протягом 3 наступних діб. Подальше збільшення протеолітичної активності слизової оболонки шлунка, очевидно, обумовлене включенням у процеси ферментолізу більшої кількості клітин, готових виконувати свої функції.

У тонкому кишечнику цих же ембріонів протеолітична активність була вищою у 2 рази порівняно зі шлунком. До 13-ї доби вона не змінювалася і на 14-у добу знову підвищилась у 2 рази. Починаючи з 18-ї доби інкубації, йде поступове збільшення активності протеаз до моменту вилуплення. Така ж закономірність простежується і в дослідженнях інших авторів [1, 4, 5], які відзначають збільшення активності кишечних протеаз після 18-ї доби інкубації і досягнення ними максимальної активності на 2-й день після вилуплення та стабілізацію активності кишечних протеаз у наступні дні.

Активність протеолітичних процесів у печінці засвідчує інтенсифікацію метаболітичних процесів, що відбуваються в організмі, так як зростає рівень потреби ембріонів у білку як будівельному матеріалі. При недостатній забезпеченості клітин печінки білком у них спостерігаються процеси «згасання» протеолітичної активності, які ведуть до уповільнення розвитку організму. Печінка розглядається як орган, у якому протеолітичні ферменти не тільки беруть участь у неспецифічному розщепленні білкових молекул, але й мають регуляторне значення, забезпечуючи один із механізмів біологічного контролю функцій органів і тканин організму [7]. З 9-ї до 14-ї доби інкубації, активність протеаз печінки, як і в більшості інших органів травної системи, мала незначні коливання, незважаючи на те, що на цей період припадає майже 1/3 ембріонального розвитку. Лише починаючи з 16-ї доби інкубації, відзначено поступове збільшення протеолітичної активності у клітинах печінки. Активність протеаз печінки

на момент вилуплення збільшується більш ніж в 4,5 рази. Таке різке збільшення активності протеаз пояснюється інтенсивним використанням білка як пластичного матеріалу, що необхідний організму для завершення першого етапу розвитку і переходу в новий якісний стан, пов'язаний з переходом в інше середовище існування (вилуплення).

В останні 3 дні інкубації відмічено також і наростання активності протеаз підшлункової залози ембріонів курей, що може свідчити про посилений синтез ферментів для створення запасу їх у цьому органі з подальшою транслокацією у дванадцятипалу кишку (рис. 2).

Результати наших досліджень свідчать, що у дванадцятипалій кишці ембріонів курей, починаючи з 18-ї доби інкубації, протеолітична активність підвищується й збільшується на момент вилуплення у 2,5 рази (рис. 2).

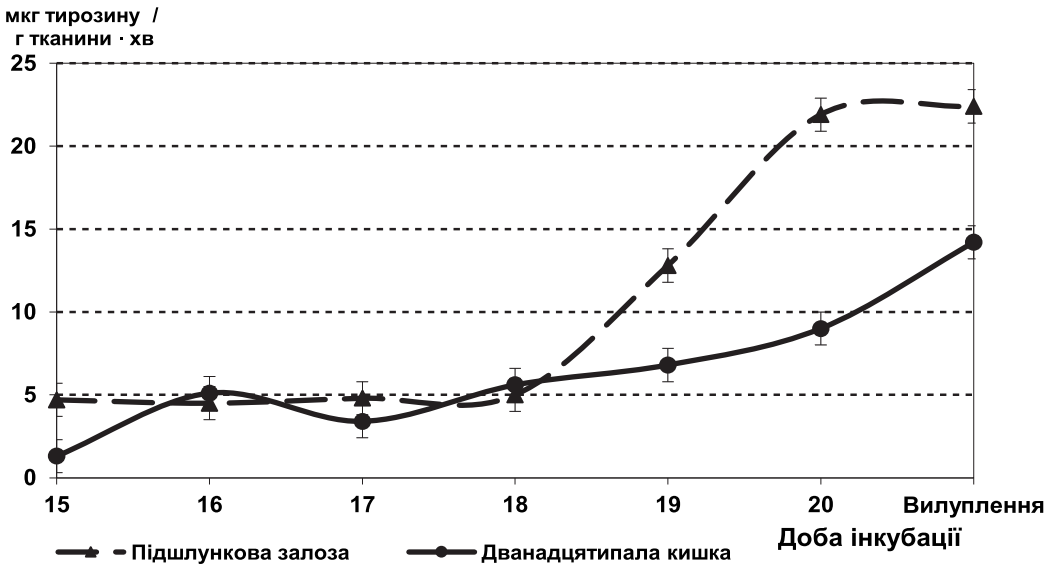

Рис. 2. **Динаміка активності протеолітичних ферментів у ембріонів і добових пташенят.**

На підставі отриманих даних можна зробити висновок про те, що в цілому на момент вилуплення курчат ферментативна система, яка забезпечує порожнинне травлення білків, практично готова до функціонування, але повільний розвиток підшлункової залози, а відповідно, і панкреатичні ферменти починають активізуватися й евакуюватися у дванадцятипалу кишку в останні дні ембріогенезу й на момент вилуплення вони ще не досягли оптимуму активності.

У дослідженнях по активності комплексу панкреатичних амілаз ми звернули увагу на ту обставину, що активність α- і γ-амілаз в органах травної системи ембріонів курей відмічена тільки на 15-ту добу інкубації і має свої характерні особливості (рис. 3). Зокрема, α-амілолітична активність у підшлунковій залозі була приблизно однаковою протягом майже усього періоду ембріогенезу. Підвищення активності відзначається тільки на 18-у добу інкубації, така ж закономірність спостерігається і в описаних вище протеолітичних ферментів, що свідчить про активацію травних ферментів у підшлунковій залозі на момент вилуплення.

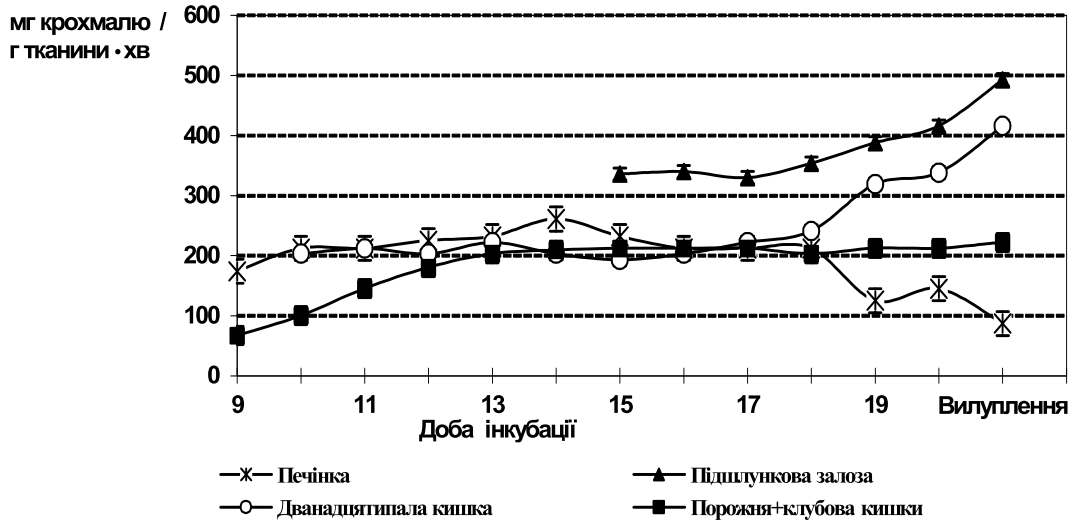

Рис. 3. **Динаміка активності амілази в органах травної системи у ембріонів і добових пташенят.**

У дванадцятипалій кишці активність α-амілази збільшується паралельно з амілолітичною активністю підшлункової залози. Тому не виключено, що амілолітична активність підшлункової залози має і регуляторне значення: при підвищенні ферментативної активності підшлункової залози починається евакуація ферменту у дванадцятипалу кишку. Ця закономірність спостерігається до моменту вилуплення.

Максимальні показники амілолітичної активності в клітинах печінки ембріонів спостерігалися на 14-у добу інкубації (рис. 3). Потім відзначалося поступове зменшення її активності до 18-ї доби розвитку і різке зменшення на момент вилуплення. Можливо, зниження амілолітичної активності пов'язане із підвищеною в цей час активністю протеаз як головного домінуючого фактора у внутрішньоклітинному травленні. Можна також припустити, що сама амілаза, яка має білкову природу, частково інактивується протеазами.

Активність γ-амілази у власне тонкому кишечнику (порожня і клубова кишки) збільшувалася з 9-ї до 13-ї доби інкубації, залишаючись потім постійною до вилуплення (рис. 3). Імовірно, γ-амілолітична активність тонкого кишечнику не є визначальною в розвитку ферментативного апарату тонкого кишечнику, але єдиної точки зору на цю проблему не існує.

Активність ліполітичних ферментів травної системи в пренатальному періоді онтогенезу також має свої особливості. У підшлунковій залозі на момент вилуплення відмічено незначне зростання активності ліпази (рис. 4).

У дванадцятипалій кишці ліполітична активність була практично постійною протягом усього періоду інкубаційного розвитку, а на момент вилуплення вона різко підвищується у 2,5 рази. На відміну від амілолітичних і протеолітичних ферментів, активна евакуація ліпази з підшлункової залози у дванадцятипалу кишку відбувається тільки на момент вилуплення. Ліполітична активність загальнокишкових залоз тонкого кишечнику (порожньо-клубова кишка) була виявлена лише на 12-у добу інкубації і майже не змінювалася до моменту вилуплення, коли зафіксовано її збільшення у 2 рази.

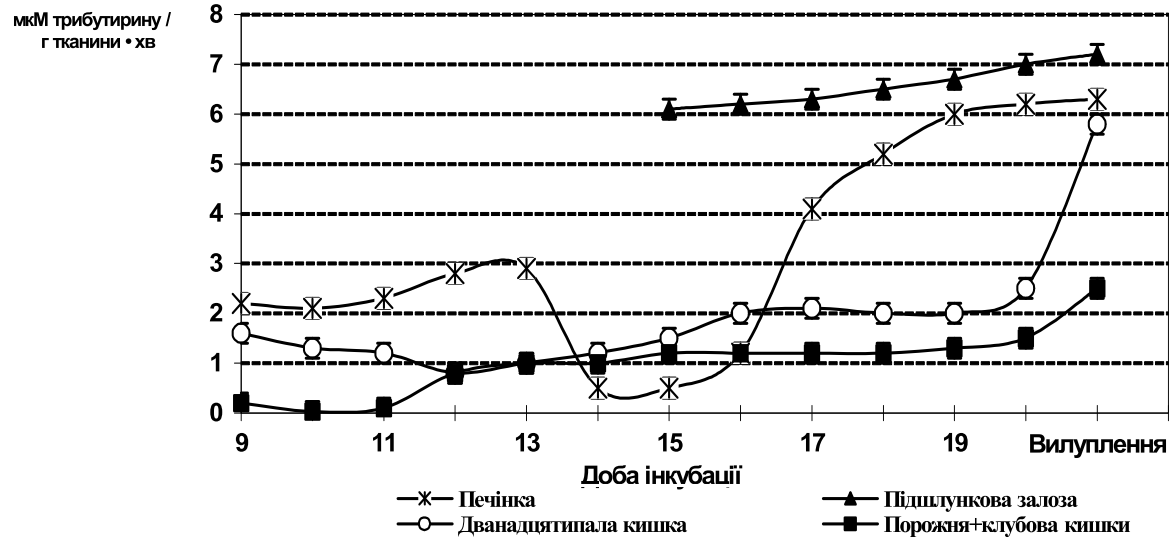

Рис. 4. **Динаміка активності ліпази в органах травної системи у ембріонів і пташенят.**

Ліполітичні процеси в печінці були найбільш інтенсивними. Починаючи з 16-ї доби інкубації, спостерігається різке підвищення активності ліпази (у 3 рази) і до моменту вилуплення відмічене зростання активності цього ферменту. Очевидно, різке підвищення активності ліпази можна пояснити переключенням ембріонів на внутрішньокишкове травлення.

Висновки:

1. Результати наших досліджень показали, що становлення ферментативного апарату травної системи, який забезпечує як порожнинне, так і пристінкове травлення, відбувається вже в пренатальному періоді онтогенезу.

2. Активність більшості ферментів зростає до кінця пренатального періоду онтогенезу – на момент вилуплення, коли травна система практично готова до процесу травлення, що відмічено на ранньому постнатальному періоді онтогенезу.

Список використаної літератури:

1. Балаян В. М. Некоторые свойства протеолитических ферментов *Tribolium cofusum* / В. М. Балаян, А. Л. Левицкий // Украинский биохимический журнал. – 1982. –Т. 54, № 4. – С. 405–409.
2. Вертипрахов В. Т. Особенности ферментовыделительной функции поджелудочной железы птиц по сравнению с млекопитающими животными / В. Г. Вертипрахов, Е. Т. Фоменко, М. Н. Бутенко // Учёные записки Забайкальского гос. ун-та. Серия «Естественные науки». – 2016 . – Т. 11, № 1. – С. 170–173.
3. Влияние комплекса незаменимых аминокислот на процессы пищеварения у перепелов / Н. П. Нищеменко // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск : УО ВГАВМ, 2015. – Т. 51, № 1, ч. 1. – С. 107–110.
4. Кирилів Б. Я. Активність гідролітичних ензимів органів травного тракту курей в онтогенезі / Б. Я. Кирилів, А. В. Гунчак // Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Тваринництво». – Суми, 2016. – Вип. 5 (29). – С. 170–174.
5. Кирилів Б. Я. Вікові та органно-тканинні особливості гідролітичних ензимів перепелів / Б. Я. Кирилів // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної

медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія «Сільськогосподарські науки». – Львів : ЛНУВМБТ, 2016. – Т. 18, № 1(65), ч. 3. – С. 53–59.
6. Петрова Л. Н. К изучению липазы микроорганизмов / Л. Н. Петрова, Т. С. Казацкая, А. А. Селезнева // Прикладная биохимия и микробиология. – 1977. – Т. 13, вып. 4. – С. 521–529.
7. Уголев А. М. Эволюционная физиология пищеварения / А. М. Уголев, Н. Н. Иезуитов, В. А. Цветкова // Руководство по физиологии. Эволюционная физиология. – Ленинград : Наука, 1983. – С. 301–310.
8. Харченко Л. П. Морфологічні особливості будови слизової оболонки кишечнику птахів у зв'язку з типом живлення / Л. П. Харченко, О. Є. Жиглова, В. С. Бирка // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини : зб. наук. пр. ХДЗВА. – Харків : РВВ ХДЗВА, 2006. – Вип. 13 (38), № 2. – С. 169–174.

Рекомендує до друку С.В. Пилипенко
Отримано 20.09.2016 р.

Л.П. Харченко, И.А. Лыкова
Харьковский национальный педагогический университет имени Г.С. Сковороды

СТАНОВЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО АППАРАТА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ПТИЦ В ПРЕНАТАЛЬНОМ И РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА

В статье приведены результаты исследования становления ферментативного аппарата пищеварительной системы птиц на примере кур породы род-айленд в пренатальный и ранний постнатальный периоды онтогенеза.

Установлена активность протеолитических, амилолитических, липолитических ферментов, которые обеспечивают как внутриполостное, так и пристеночное пищеварение. Проанализировано изменение активности ферментов в зависимости от суток инкубации и формирования пищеварительных желез. Выявлена активность ферментов на различных этапах эмбриогенеза и раннего постэмбриогенеза. Установлено, что на последних этапах пренатального развития повышается активность ферментов поджелудочной железы и печени, что свидетельствует о готовности пищеварительной системы к пищеварению.

В процессе исследований выявлены особенности некоторых ферментов поджелудочной железы и печени. Так, активность протеаз печени на момент вылупления увеличивается более чем в 4,5 раза. Активность α- и γ-амилаз отмечена только на 15-е сутки инкубации. Максимальные показатели амилолитической активности в клетках печени отмечены у эмбрионов на 14-е сутки инкубации. Обнаружено, что, в отличие от амилолитических и протеолитических ферментов, активная эвакуация липазы из поджелудочной железы в двенадцатиперстную кишку наблюдается только на момент вылупления. Наиболее высокая активность липазы печени отмечена в период вылупления, что связано с переключением эмбрионов на внутрикишечное пищеварение.

Таким образом, результаты исследования показали, что становление ферментативного аппарата пищеварительной системы, обеспечивающего как внутриполостное, так и пристеночное пищеварение, происходит уже в пренатальном периоде онтогенеза. Активность большинства ферментов возрастает к концу пренатального периода онтогенеза – на момент вылупления, когда пищеварительная система практически готова к процессу пищеварения.

Ключевые слова: *птицы, пищеварительная система, ферментативный апарат, протеазы, амилазы, липазы, эмбриогенез, ранний постэмбриогенез.*

L.P. Harchenko, I.O. Lykova

H.S. Skovoroda Kharkiv National Pedagogical University

FORMATION OF THE ENZYMATIC APPARATUS OF THE DIGESTIVE SYSTEM OF BIRDS IN THE PRENATAL AND EARLY POSTNATAL PERIOD OF ONTOGENESIS

The article presents the results of the study the formation of the fermentative apparatus of the digestive system of birds on the example of chickens breed Rhode Island in the prenatal and early postnatal period of ontogenesis.

The activity of proteolytic, amylolytic, and lipolytic enzymes that provide both intracavitary and parietal digestion has been established. The change in enzyme activity is analyzed depending on the day of incubation and the formation of digestive glands. The activity of enzymes at various stages of embryogenesis and early postembryogenesis was revealed. It is established that at the last stages of prenatal development the activity of the enzymes of the pancreas and liver increases, which indicates the readiness of the digestive system for digestion.

In the process of research, the features of some enzymes of the pancreas and liver have been revealed. Thus, the activity of liver proteases at the time of hatching increases by more than 4,5 times. The activity of α- and γ-amylases was noted only on the 15th day of incubation. The maximum parameters of amylolytic activity in liver cells were noted in embryos on the 14th day of incubation. It was found that, unlike amylolytic and proteolytic enzymes, the active evacuation of lipase from the pancreas to the duodenum is observed only at the time of hatching. The highest activity of liver lipase was observed during hatching, which is due to the switching of embryos to intestinal digestion.

Thus, the results of the study showed that the formation of the enzymatic apparatus of the digestive system, providing both intracavitary and parietal digestion, occurs already in the prenatal period of ontogenesis. The activity of most enzymes increases by the end of the prenatal period of ontogenesis – at the time of hatching, when the digestive system is almost ready for the process of digestion.

Key words: *birds, digestive system, enzymatic apparatus, proteases, amylases, lipases, embryogenesis, early postembryogenesis.*