

Животноводство и кормопроизводство. 2021. Т. 104, № 4. С. 182-192.
Animal Husbandry and Fodder Production. 2021. Vol. 104, no 4. P. 182-192.

Научная статья
УДК 636.5:547.992:591.11
doi:10.33284/2658-3135-104-4-182

Биохимические показатели крови и антиоксидантный статус цыплят-бройлеров при использовании фульвогумата в рационе

Ксения Сергеевна Нечитайло¹, Елена Анатольевна Сизова²

¹Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Оренбург, Россия

¹k.nechit@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8755-414X>

²sizova.L78@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5125-5981>

Аннотация. Регулярное употребление продукции птицеводства, произведённой с использованием кормовых антибиотиков – это риск возникновения ряда негативных последствий для здоровья человека, в том числе антибиотикорезистентности. Ежедневно, поедая рацион, содержащий антибиотики-стимуляторы роста, цыплята-бройлеры становятся резервуаром и переносчиками генов устойчивости к антибиотикам. Кроме того, современные скороспелые кроссы цыплят-бройлеров особенно подвержены окислительному стрессу в силу генетических особенностей. Фульвогуматы способны выступать как в качестве безопасной альтернативы кормовым антибиотикам, так и в качестве мощного антиоксиданта. Цель исследований состояла в оценке влияния фульвогумата на биохимические показатели сыворотки крови и антиоксидантный статус цыплят-бройлеров. Результаты исследований показали ростостимулирующий эффект фульвогумата при скормливании рациона, свободного от антибиотиков. Результаты биохимического анализа сыворотки крови цыплят-бройлеров свидетельствует об отсутствии токсического эффекта фульвогумата с выраженной интенсификацией метаболических процессов. Фульвогумат проявляет высокую антиоксидантную активность и защищает клетки от окислительного повреждения, индуцируя общую антиоксидантную, каталазную и супероксиддисмутазную активность, а также снижая уровень малонового диальдегида.

Ключевые слова: цыплята-бройлеры, кормление, продуктивность, гуминовые вещества, фульвогумат, антиоксидантный статус

Благодарности: работа выполнена в соответствии с планом НИР за 2021-2023 гг. ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (№ 0761-2019-0005).

Для цитирования: Нечитайло К.С., Сизова Е.А. Биохимические показатели крови и антиоксидантный статус цыплят-бройлеров при использовании фульвогумата в рационе // Животноводство и кормопроизводство. 2021. Т. 104, № 4. С. 182-192. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-104-4-182>

Original article

Biochemical parameters of blood and antioxidant status of broiler chickens using fulvohumate in the diet

Ksenia S Nechitailo¹, Elena A Sizova²

¹Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

¹k.nechit@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8755-414X>

²Sizova.L78@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5125-5981>

Abstract. Regular consumption of poultry products produced with the use of feed antibiotics is the risk of a number of negative consequences for human health, including antibiotic resistance. By consuming a diet

containing antibiotics-growth stimulants every day, broilers become a reservoir and carriers of antibiotic resistance genes. In addition, modern early maturing broiler chicks are particularly susceptible to oxidative stress due to genetic characteristics. Thus, fulvohumates are able to act both as a safe alternative to feed antibiotics and as a powerful antioxidant. The aim of the study was to assess the effect of fulvohumate on the biochemical parameters of blood serum and the antioxidant status of broiler chickens. Research results have shown the growth-stimulating effect of fulvohumate when fed antibiotic-free diets. The results of biochemical analysis of blood serum of broiler chickens indicate the absence of the toxic effect of fulvohumate with a pronounced intensification of metabolic processes. Fulvohumate exhibits high antioxidant activity and protects cells from oxidative damage by inducing general antioxidant, catalase and superoxide dismutase activity, as well as reducing the level of malondialdehyde.

Keywords: broiler chickens, feeding, productivity, humic substances, fulvohumate, antioxidant status

Acknowledgments: the work was performed in accordance to the plan of research works for 2021-2023 FSBRI FRC BST RAS (No. 0761-2019-0005).

For citation: Nechitailo KS, Sizova EA. Biochemical parameters of blood and antioxidant status of broiler chickens using fulvohumate in the diet. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2021;104(4):182-192. (In Russ.). <https://doi.org/10.33284/2658-3135-104-4-182>

Введение.

Экономическая эффективность промышленного птицеводства обеспечивается благодаря хорошей продуктивности и сохранности поголовья, что достигается не только за счёт сбалансированного рациона (Рязанцева К.В. и др., 2021), но и поступления биологически активных веществ, стимуляторов роста, в том числе кормовых антибиотиков. Регулярное употребление продукции птицеводства, произведённой с использованием подобных веществ – это риск возникновения ряда негативных последствий для здоровья человека, в том числе антибиотикорезистентности (Simakova IV et al., 2021). Ежедневно, поедая рацион, содержащий антибиотики-стимуляторы роста, цыплята-бройлеры становятся резервуаром и переносчиками генов устойчивости к антибиотикам (Dominguez-Negrete A et al., 2019).

В связи с этим важной задачей науки и практики является поиск новых способов преодоления кормовой антибиотической зависимости за счёт использования в рационе экологически чистых, биологически активных веществ, оказывающих стимулирующее действие на продуктивность в частности и здоровье животных в целом (Gomez-Rosales S and de L Angeles M, 2015).

Кроме того, современные скороспелые кроссы цыплят-бройлеров особенно подвержены окислительному стрессу в силу генетических особенностей (Sihvo HK et al., 2014; Zheng XC et al., 2016). Основные эффекты окислительного стресса в значительной степени связаны с повреждением тканей и нарушением гомеостаза, что отражается в изменениях биохимических показателей сывотки крови и антиоксидантного статуса (Liu CT and Brooks GA., 2011).

Фульвогуматы (ФВГ) способны выступать как в качестве безопасной альтернативы кормовым антибиотикам (Gomez-Rosales S and de L Angeles M, 2015), так и в качестве мощного антиоксиданта (Klein OI et al., 2021). В ветеринарной практике ФВГ используются в качестве противодиарейных, анальгетических, иммуностимулирующих и противомикробных средств (Jad'uttová I et al., 2019).

ФВГ – это естественные соединения различных самоорганизующихся органических молекул, образующие динамические ассоциации, связанные водородными мостиками и гидрофобными связями (Duan J et al., 2021), с отчётливыми иммуномодулирующими и защитными свойствами. Чрезвычайная структурная неоднородность обеспечивает относительную устойчивость ФВГ к биодеградации (Kulikova NA and Perminova IV, 2021).

Химическая и физиологическая активность ФВГ напрямую связана с их молекулярной массой, структурными характеристиками, а также типом и количеством кислородсодержащих функциональных групп. ФВГ обладают свойствами адсорбции и комплексообразования, в том числе с ионами металлов (Wang M et al., 2021). Важным преимуществом препаратов на основе гуминовых

и фульвовых кислот является комплексность их действия. В том числе, апробированным в мировой науке является использование ФВГ в качестве эффективной альтернативы кормовым антибиотикам (Domínguez-Negrete A et al., 2019; Mao Y, 2019).

В этой связи перспективной является оценка влияния ФВГ на метаболиты обменных процессов и антиоксидантный статус цыплят-бройлеров.

Цель исследования.

Оценить влияние ФВГ на биохимические показатели сыворотки крови и антиоксидантный статус цыплят-бройлеров.

Материалы и методы исследования.

Объект исследования. Цыплята-бройлеры кросса Арбор Айкрес в возрасте 7 суток (n=20).

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями российских нормативных актов (1987 г.; Приказ Минздрава СССР № 755 от 12.08 1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных») и «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (National Academy Press, Washington, D.C., 1996). При проведении исследований были предприняты меры, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшения количества исследованных опытных образцов.

Схема эксперимента. Эксперимент был проведён в 2020 г в условиях вивария ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН, методом групп-аналогов сформированы две группы (n=10): контроль и опыт. Цыплятам контрольной группы вводили основной рацион, сформированный в соответствии с нормами ВНИТИП (2015). Цыплятам опытной группе к основному рациону добавляли фульвогумат («Фульвогумат® Иван Овсинский КОРМ®», Россия) в расчёте 0,01 мл на 1 кг живой массы (рекомендация производителя). В составе премикса исследуемых групп отсутствовали кормовые антибиотики.

На протяжении всего эксперимента цыплята-бройлеры как контрольной, так и опытных групп, находились в одинаковых условиях содержания и кормления. Продолжительность эксперимента – 42 суток: подготовительный период – 7 суток и учётный – 35.

В конце экспериментального периода (42-суточном возрасте) определяли биохимические показатели крови (общий белок, триглицериды, глюкоза, аланинаминотрансфераза (АлАТ), аспаратаминотрансфераза (АсАТ), амилаза, альбумин, билирубин общий, кальций, креатинин, мочевины, холестерин, билирубин прямой, триглицериды, магний, фосфор, α -Амилаза, р-Амилаза, липаза) с использованием автоматического биохимического анализатора и показатели антиоксидантного статуса (активность каталазы, супероксиддисмутазы, малоновый диальдегид).

Оборудование и технические средства. Исследования были проведены на базе центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве» с использованием материально-технических средств Центра коллективного пользования биологических систем и агротехнологий РАН (ЦКП ФНЦ БСТ РАН) (<https://ckp-rf.ru/ckp/77384/>). Анализатор CS-T240 («Dirui Industrial Co., Ltd», Китай) с использованием наборов ДиаВетТест (Россия).

Статистическая обработка. Статистический анализ данных выполнен с помощью офисного программного комплекса «Microsoft Office» с применением программы «Excel» («Microsoft», США) и обработкой данных в «Statistica 12.0» («Stat Soft Inc.», США). Проверка на нормальность распределения данных была проведена с помощью критерия согласия Колмогорова-Смирнова. Для оценки статистической значимости использовали параметрический t- критерий Стьюдента независимых групп.

Результаты исследований.

На основании ежесуточного контроля живой массы установлено, что ФВГ обладают ростостимулирующим эффектом. Так, спустя первые две недели эксперимента, в опытной группе было

выявлено увеличение живой массы на 14,53 % ($P \leq 0,05$) по сравнению с контролем. Максимальные показатели прироста установлены к концу эксперимента. Спустя четыре недели разница с контролем составила 19,44 % ($P \leq 0,05$), спустя пять недель разница в приросте живой массы возросла до 21,26 % ($P \leq 0,05$) по сравнению с контролем.

В ходе анализа биохимических показателей сыворотки крови были выявлены изменения величин на фоне применения ФВГ в рамках физиологической нормы (табл. 1).

Таблица 1. Биохимические показатели сыворотки крови цыплят-бройлеров в возрасте 42 суток ($M \pm SEM$) ($n=10$, опыт в условиях вивария)

Table 1. Biochemical parameters of blood serum of broiler chickens at the age of 42 days ($M \pm SEM$) ($n=10$, experiment in vivarium conditions)

Показатели / <i>Indicators</i>	Группы / <i>Groups</i>	
	контрольная / <i>control</i>	опытная / <i>experimental</i>
Глюкоза, ммоль/л / <i>Glucose, mmol/l</i>	11,22±0,52	11,97±0,19
Общий белок, г/л / <i>Total protein, g/l</i>	32,83±0,09	35,85±0,58*
Альбумин, г/л / <i>Albumin, g/l</i>	14,80±0,37	15,00±0,55
АЛаТ, Ед/л / <i>ALaT, U/l</i>	8,00±0,17	6,08±0,44**
АСаТ, Ед/л / <i>ACaT, U/l</i>	314,0±14,74	284,4±24,73
Билирубин общий, мкмоль/л / <i>Total bilirubin, μmol/l</i>	0,74±0,02	0,56±0,15
Билирубин прямой, мкмоль/л / <i>Direct bilirubin, μmol/l</i>	0,41±0,03	0,34±0,08
Холестерин, ммоль/л / <i>Cholesterol, mmol/l</i>	2,85±0,06	3,16±0,22
Триглицериды, ммоль/л / <i>Triglycerides, mmol/l</i>	0,32±0,01	0,24±0,02**
Мочевина, ммоль/л / <i>Urea, mmol/l</i>	0,42±0,02	0,54±0,1
Креатинин, мкмоль/л / <i>Creatinine, μmol/l</i>	25,62±0,35	22,2±0,88**
Mg, ммоль/л / <i>Mg, mmol/l</i>	1,12±0,04	1,08±0,03
Ca, ммоль/л / <i>Ca, mmol/l</i>	2,86±0,06	2,7±0,04*
Фосфор, ммоль/л / <i>Phosphorus, mmol/l</i>	2,29±0,07	2,56±0,25
α -амилаза, Ед/л / <i>α-amylase, U/l</i>	113,62±0,27	118,8±0,86*
p-амилаза, Ед/л / <i>p-amylase, U/l</i>	442,2±11,64	424,86±59,92
Липаза, Ед/л / <i>Lipase, U/l</i>	11,86±0,53	8,82±0,87**

Примечание: * – $P \leq 0,05$, ** – $P \leq 0,01$ при сравнении с контрольной группой

Note: * – $P \leq 0,05$, ** – $P \leq 0,01$ when compared with the control group

Использование ФВГ сопровождается интенсификацией белкового обмена, о чём свидетельствует повышение уровня белка в опытной группе на 9,2 % ($P \leq 0,05$) с тенденцией к увеличению уровня альбумина и мочевины в сравнении с контрольными значениями.

Изменения липидного обмена отражаются в динамике концентрации триглицеридов. Так, в опытной группе отмечено снижение данного показателя на 25,6 % ($P \leq 0,05$) по сравнению с контролем. Уровень холестерина в опытной группе был не достоверно повышен.

При оценке пигментного обмена, статистически значимых различий в концентрации общего и прямого билирубина выявлено не было.

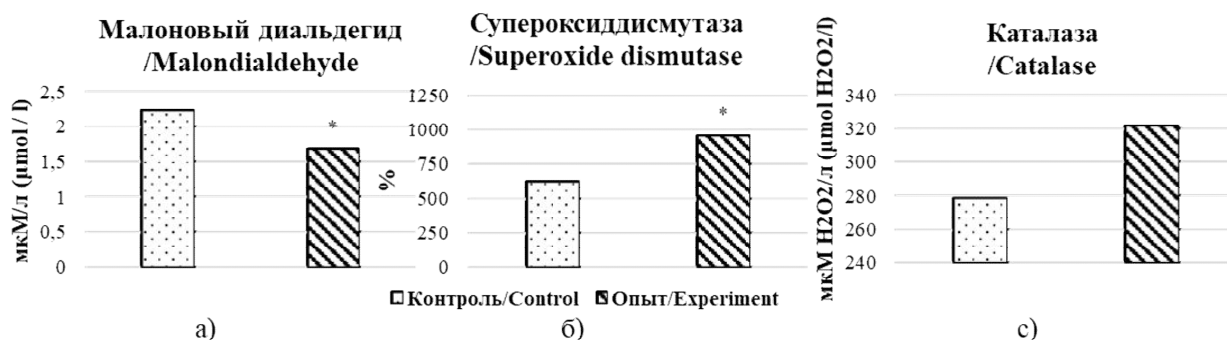
В ходе оценки ферментативных показателей сыворотки крови было выявлено увеличение активности α -амилазы в опытной группе на 4,55 % ($P \leq 0,05$) в сравнении с контролем. Активность липазы была снижена в опытной группе на 25,63 % ($P \leq 0,01$) по отношению к контролю.

Применение ФВГ приводит к снижению активности АлаТ на 24,1 % ($P \leq 0,05$) в сравнении с контролем. Снижение уровня АсаТ находилось на уровне тенденции.

В опытной группе происходило снижение уровня креатинина на 13,35 % ($P \leq 0,05$).

Из показателей минерального обмена стабильностью обладали концентрация магния и фосфора, находясь на одном уровне как в опытной, так и в контрольной группах. Концентрация кальция в опытной группе была снижена на 5,59 % ($P \leq 0,05$) относительно контроля.

При оценке антиоксидантного статуса установлено (рис. 1) снижение концентрации конечного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида в крови цыплят-бройлеров на 24,5 % ($P \leq 0,05$).



Примечание: * – $P \leq 0,05$ при сравнении с контрольной группой

Note: * – $P \leq 0.05$ compared with the control group

Рис. 1 – а) – концентрация малонового диальдегида, мкМ/л; б) – концентрация супероксиддисмутазы, %; с) – концентрация каталазы в сыворотки крови цыплят-бройлеров кросса Арбор-Айкрес в возрасте 42 суток, мкМ H₂O₂/л (n=10, опыт в условиях вивария)

Figure 1 – a) – Concentration of malondialdehyde, μM/L; b) – Concentration of superoxide dismutase, %; c) – Concentration of catalase in blood serum of broiler chickens of the Arbor Acres crosses at the age of 42 days, μM H₂O₂/L (n=10, experiment under vivarium conditions)

При оценке антиоксидантной ферментативной активности установлено увеличение уровня супероксиддисмутазы и каталазы при использовании ФВГ по отношению к контролю. Разница в активности супероксиддисмутазы между контрольной и опытной групп составила 52,2 % ($P \leq 0,05$). Изменение каталазы находилось на уровне тенденции.

Таким образом, выявленные изменения биохимического состава сыворотки крови и показателей антиоксидантного статуса в сочетании с динамикой живой массы бройлеров опытной группы свидетельствуют о выраженном положительном стимулирующем эффекте ФВГ на обмен веществ цыплят-бройлеров.

Обсуждение полученных результатов.

Выявленный ростостимулирующий эффект ФВГ вероятно связан с перераспределением питательных нутриентов (Taklimi SMSM et al., 2012). ФВГ играют важную роль в продуктивности птицы, благодаря особенностям химического состава изменяют микробиом кишечника и увеличивают количество полезных бактерий (Salzman NH, 2011). ФВГ оказывают влияние на глубину крипт ворсинок тощей кишки бройлеров. На рост ворсинок влияет присутствие токсичных агентов, рН, качественного и количественного состава микробиома кишечника (Mohammadsadeghi F et al., 2019). ФВГ снижают рН и количество патогенных бактерий в кишечнике. Таким образом, ФВГ оказывают влияние на продуктивность цыплят-бройлеров через экосистему желудочно-кишечного

тракта, влияя как на морфологию слизистой оболочки, так и на микробиом желудочно-кишечного тракта (Taklimi SM et al., 2012).

Биохимические показатели сыворотки крови выступают маркерами метаболизма, реагирующими на любые изменения под действием внутренних и внешних факторов (Króliczewska B et al., 2017). Печень, являясь центральным звеном детоксикации, участвует в метаболизме эндогенных и экзогенных веществ. Активность АлАТ и АсАТ – диагностический инструмент гепатотоксичности, своеобразный индикатор повреждения или нарушения функции печени (Abdul Basit M et al., 2020). Результаты исследования показали снижение сывороточной активности АлАТ ($P \leq 0,01$) и снижение АсАТ на фоне введения в рацион ФВГ, что косвенно свидетельствует о гепатопротекторном характере действия ФВГ (Ghahri H et al., 2010).

Повышение активности α -амилазы, вероятно, является результатом активации синтеза данного фермента в поджелудочной железе с последующим увеличением интенсивности поступления в кровь в пределах нормативных значений. Данный факт подтверждается стабильной динамикой активности р-амилазы и незначительным снижением липазы (Cowieson AJ et al., 2013; Mao Y, 2019).

Период откорма современных кроссов цыплят-бройлеров – короткий, за который организм стремительно накапливает строительные белки, что в свою очередь отражается на концентрации белков в сыворотке крови (Króliczewska B et al., 2017). Так, в исследованиях установлено, что ФВГ приводит к увеличению концентрации общего белка ($P \leq 0,05$) и альбумина.

Концентрации холестерина и триглицеридов выступают в качестве индикаторов липидного обмена (Nakan K et al., 2012). В эксперименте не установлено значимых колебаний холестерина. Однако концентрация триглицеридов была снижена ($P \leq 0,01$) в опытной группе. Изменение уровня метаболитов липидного обмена может быть следствием снижения внутриклеточного бактериального pH. За счёт ингибирования микробных ферментов мембрана бактериальной клетки вынуждена использовать энергию для высвобождения кислотных протонов, что приводит к снижению внутриклеточного pH (Abdo M and Zeinb A, 2004).

Любое изменение показателей минерального обмена приводит к дезорганизации биохимических и метаболических путей. Так, в эксперименте установлено снижение ($P \leq 0,05$) уровня Са. Уменьшение Са в крови обусловлено хелатирующим свойством ФВГ. Высокая длинноцепочечность и молекулярная масса с большим количеством остатков карбоновой кислоты, позволяет ФВГ поглощать минералы и другие метаболиты, делая клеточную мембрану более проницаемой (Arif M et al., 2018).

По уровню креатинина и мочевины можно судить о функциональном состоянии почек. В эксперименте при введении ФВГ уровень мочевины остался неизменным, с одновременным снижением ($P \leq 0,01$) креатинина. Вероятно, данный эффект связан с интенсификацией биохимических путей и переходом данного метаболита в креатинфосфат (Сизова Е.А. и др., 2016).

Таким образом, результаты биохимического анализа сыворотки крови цыплят-бройлеров свидетельствуют об отсутствии токсического эффекта ФВГ с интенсификацией метаболических процессов.

При активации процессов свободнорадикального окисления под действием как экзогенных прооксидантных факторов, так и эндогенных механизмов генерирования радикалов, актуально и целесообразно использование антиоксидантов различного происхождения (Karadirek Ş et al., 2016). В настоящем исследовании экспериментально доказано наличие антиоксидантных свойств ФВГ, что согласуется с другими *in vivo* и *in vitro* исследованиями (Zykova MV et al., 2018; Mudronova D et al., 2020; Klein OI et al., 2021).

Различные гуминовые вещества являются мощными антиоксидантами и обладают способностью улавливать активные формы кислорода (АФК) [супероксид-анион ($O_2^{\cdot -}$) и гидроксильный радикал (OH^{\cdot})] (Zykova MV et al., 2018). Входящие в состав ФВГ множественные фрагменты, окисляются при разных потенциалах, высвобождая протоны и электроны претерпевая необратимые последующие реакции (Aeschbacher M et al., 2012).

Антиоксидантная активность ФВГ обеспечивается в первую очередь наличием в строении фенольных и хиноидных фрагментов (Klein OI et al., 2021). Подобно фенолам ФВГ способны выступать донорами или акцепторами электронов в зависимости от окислительно-восстановительного состояния системы (Zykova MV et al., 2018). Известно, что фенольные компоненты являются структурными фрагментами, ответственными за антиоксидантную активность многих других природных биоактивных веществ (Trckova M et al., 2018).

Нефенольные компоненты, входящие в состав ФВГ, такие как полисахариды, также способны поглощать свободные радикалы (Wang J et al., 2016, Wang J et al., 2021).

Кроме того, наличие кислотных групп (–COOH, –OH) также вносит вклад в общее антиоксидантное действие данных веществ (Vašková J et al., 2018). Таким образом, каждая макромолекула ГВ содержит в своем строении несколько антиоксидантных сайтов, проявляя мощные реакционные свойства (Aeschbacher M et al., 2012).

Заключение.

Таким образом, результаты исследования показали ростостимулирующий эффект ФВГ при скармливании рациона, свободного от антибиотиков.

Результаты биохимического анализа сыворотки крови цыплят-бройлеров свидетельствуют об отсутствии токсического эффекта ФВГ с выраженной интенсификацией метаболических процессов. ФВГ проявляет высокую антиоксидантную активность и защищает клетки от окислительного повреждения, индуцируя общую антиоксидантную, каталазную и супероксиддисмутазную активность, а также снижая уровень малонового диальдегида. Таким образом, антиоксидантные свойства ФВГ определяют их значительный потенциал для использования в сельском хозяйстве.

Список источников

1. Морфо-биохимические показатели крови у бройлеров при коррекции рациона солями и наночастицами Cu / Е. А. Сизова и др. // Сельскохозяйственная биология. 2016. Т. 51. № 6. С. 903-911. doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.903rus [Sizova EA et al. Morphological and biochemical blood parameters in broilers at correction with dietary copper salts and nanoparticles. Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]. 2016;51(6):903-911. (In Russ)]. doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.903eng
2. Рязанцева К.В., Нечитайло К.С., Сизова Е.А. Нормирование минерального питания цыплят-бройлеров (обзор) // Животноводство и кормопроизводство. 2021. Т. 104. № 1. С. 119-137. [Ryazantseva KV, Nechitailo KS, Sizova EA. Broiler chickens mineral nutrition rationing (review). Animal Husbandry and Fodder Production. 2021;104(1):119-137. (In Russ)]. doi: 10.33284/2658-3135-104-1-119
3. Abdo M, Zeinb A. Efficacy of acetic acid in improving the utilization of low protein-low energy broiler diets. Egypt Poult Sci J. 2004;24(1):123-141.
4. Abdul Basit M et al. Effects of inclusion of different doses of *Persicaria odorata* leaf meal (POLM) in broiler chicken feed on biochemical and haematological blood indicators and liver histomorphological changes. Animals. 2020;10(7):1209. doi: 10.3390/ani10071209
5. Aeschbacher M et al. Antioxidant properties of humic substances. Environ Sci Technol. 2012;46(9):4916-4925. doi: 10.1021/es300039h
6. Arif M, Rehman A, Abd El-Hack ME et al. Growth, carcass traits, cecal microbial counts, and blood chemistry of meat-type quail fed diets supplemented with humic acid and black cumin seeds. Asian-Australas J Anim Sci. 2018;31(12):1930-1938. doi: 10.5713/ajas.18.0148
7. Cowieson AJ, Ptak A, Mackowiak P, Sassek M, Pruszyńska-Oszmulek E, Zyla K, Swiatkiewicz S, Kaczmarek S, Józefiak D. The effect of microbial phytase and myo-inositol on performance and blood biochemistry of broiler chickens fed wheat/corn-based diets. Poult Sci. 2013;92(8):2124-2134. doi: 10.3382/ps.2013-03140

8. Domínguez-Negrete A, Gómez-Rosales S, Angeles ML, López-Hernández LH, Reis-de Souza TC, López-García Y, Zavala-Franco A, Téllez-Isaias G. Effect of the addition of humic substances as growth promoter in broiler chickens under two feeding regimens. *Animals*. 2019;9(12):1101. doi: 10.3390/ani9121101
9. Duan J, Xu Z, Yang Z, Jiang J. Insight to microbial Fe(III) reduction mediated by redox-active humic acids with varied redox potentials. *J Environ Res Public Health*. 2021;18(13):6807. doi: 10.3390/ijerph18136807
10. Ghahri H, Habibian R, Fam MA. Evaluation of the efficacy of esterified glucomannan, sodium bentonite, and humic acid to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *Turk J Vet Anim Sci*. 2010;34(4):385-391. doi: 10.3906/vet-0903-19
11. Gomez-Rosales S, de L Angeles M. Addition of a worm leachate as source of humic substances in the drinking water of broiler chickens. *Asian-Australas J Anim Sci*. 2015;28(2):215-222. doi:10.5713/ajas.14.0321
12. Hakan K, Gultekin Y, Ozge S. Effects of boric acid and humate supplementation on performance and egg quality parameters of laying hens. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*. 2012;14(4):283-289. doi: 10.1590/S1516-635X2012000400008
13. Jaďuttová I, Marcinčáková D, Bartkovský M, Semjon B, Harčarová M, Nagyová A, Váczi P, Marcinčák S. The effect of dietary humic substances on fattening performance, carcass yield, biochemical blood parameters and bone mineral profile of broiler chickens. *Acta Vet. Brno*. 2019;88(3):307-313. doi: 10.2754/avb201988030307
14. Karadirek Ş, Kanmaz N, Balta Z, Demirçivi P, Üzer A, Hızal J, Apak R. Determination of total antioxidant capacity of humic acids using CUPRAC, Folin-Ciocalteu, noble metal nanoparticle- and solid-liquid extraction-based methods. *Talanta*. 2016;153:120-129. doi: 10.1016/j.talanta.2016.03.006
15. Klein OI, Kulikova NA, Konstantinov AI, Zykova MV, Perminova IV. A systematic study of the antioxidant capacity of humic substances against peroxy radicals: relation to structure. *Polymers*. 2021;13(19):3262. doi: 10.3390/polym13193262
16. Króliczewska B, Mišta D, Króliczewski J, Zawadzki W, Kubaszewski R, Wincewicz E, Szopa J. A new genotype of flax (*Linum usitatissimum* L.) with decreased susceptibility to fat oxidation: consequences to hematological and biochemical profiles of blood indices. *J Sci Food Agric*. 2017;97(1):165-171. doi: 10.1002/jsfa.7705
17. Kulikova NA, Perminova IV. Interactions between humic substances and microorganisms and their implications for nature-like bioremediation technologies. *Molecules*. 2021;26(9):2706. doi: 10.3390/molecules26092706
18. Liu CT, Brooks GA. Mild heat stress induces mitochondrial biogenesis in C2C12 myotubes. *J Appl Physiol*. 2012;112(3):354-361. doi: 10.1152/jappphysiol.00989.2011
19. Mao Y. Modulation of the growth performance, meat composition, oxidative status, and immunity of broilers by dietary fulvic acids. *Poult Sci*. 2019;98(10):4509-4513. doi: 10.3382/ps/pez281
20. Mohammadsadeghi F, Afsharmanesh M, Ebrahimnejad H. The substitution of humic material complex with mineral premix in diet and interaction of that with probiotic on performance, intestinal morphology and microflora of chickens. *Livestock Science*. 2019;228:1-4. doi: 10.1016/j.livsci.2019.07.010
21. Mudronova D, Karáľová V, Pešulová T, Koscova J, Maruščáková I, Bartkovský M, Marcinčáková D, Sevcíková Z, Marcincak S. The effect of humic substances on gut microbiota and immune response of broilers. *Food and Agricultural Immunology*. 2020;31(1):137-149. doi: 10.1080/09540105.2019.1707780
22. Salzman NH. Microbiota-immune system interaction: an uneasy alliance. *Current Opinion in Microbiology*. 2011;14(1):99-105. doi: 10.1016/j.mib.2010.09.018
23. Sihvo HK, Immonen K, Puolanne E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. *Vet Pathol*. 2014;51(3):619-623. doi: 10.1177/0300985813497488

24. Simakova IV, Vasiliev AA, Korsakov KV, Sivokhina LA, Salautin VV, Gulyaeva LY, Dmitriev NO. Role of Humic Substances in Formation of Safety and Quality of Poultry Meat. In: Makan A, editor. Humic Substances. IntechOpen, 2021;5:128-186. doi: 10.5772/intechopen.96595
25. Taklimi SMSM, Ghahri H, Isakan MA. Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. Agric Sci. 2012;3(5):663-668. doi:10.4236/as.2012.35080
26. Trckova M, Lorencova A, Babak V, Neca J, Ciganek M. The effect of leonardite and lignite on the health of weaned piglets. Res Vet Sci. 2018;119:134-142. doi: 10.1016/j.rvsc.2018.06.004
27. Vašková J, Patlevič P, Žatko D, Marcinčák S, Vaško L, Krempaská K, Nagy J. Effects of humic acids on poultry under stress conditions. Slov Vet Res. 2018;55(4):245-253. doi: 10.26873/SVR-469-2018
28. Wang J, Hu S, Nie S, Yu Q, Xie M. Reviews on mechanisms of in vitro antioxidant activity of polysaccharides. Oxid. Med. Cell. Longev. 2016;5692852. doi: 10.1155/2016/5692852
29. Wang M, Li Y, Zhang Y, Hu X, Li Q, Su Y, Zhao W. Exploration of the H₂O₂ oxidation process and characteristic evaluation of humic acids from two typical lignites. ACS Omega. 2021;6(37):24051-24061. doi: 10.1021/acsomega.1c03257
30. Zheng XC, Wu QJ, Song ZH, Zhang H, Zhang JF, Zhang LL, Zhang TY, Wang C, Wang T. Effects of Oridonin on growth performance and oxidative stress in broilers challenged with lipopolysaccharide. Poult Sci. 2016;95(10):2281-2289. doi: 10.3382/ps/pew161
31. Zykova MV, Schepetkin IA, Belousov MV, Krivoshechekov SV, Logvinova LA, Bratishko KA, Yusubov MS, Romanenko SV, Quinn MT. Physicochemical characterization and antioxidant activity of humic acids isolated from peat of various origins. Molecules. 2018;23(4):753. doi: 10.3390/molecules23040753

References

1. Sizova EA et al. Morphological and biochemical blood parameters in broilers at correction with dietary copper salts and nanoparticles. Agricultural Biology. 2016;51(6):903-911. doi: 10.15389/agrobiol.2016.6.903eng
2. Ryazantseva KV, Nechitailo KS, Sizova EA. Broiler chickens mineral nutrition rationing (review). Animal Husbandry and Fodder Production. 2021;104(1):119-137. doi: 10.33284/2658-3135-104-1-119
3. Abdo M, Zeinb A. Efficacy of acetic acid in improving the utilization of low protein-low energy broiler diets. Egypt Poult Sci J. 2004;24(1):123-141.
4. Abdul Basit M et al. Effects of inclusion of different doses of *Persicaria odorata* leaf meal (POLM) in broiler chicken feed on biochemical and haematological blood indicators and liver histomorphological changes. Animals. 2020;10(7):1209. doi: 10.3390/ani10071209
5. Aeschbacher M et al. Antioxidant properties of humic substances. Environ Sci Technol. 2012;46(9):4916-4925. doi: 10.1021/es300039h
6. Arif M, Rehman A, Abd El-Hack ME, et al. Growth, carcass traits, cecal microbial counts, and blood chemistry of meat-type quail fed diets supplemented with humic acid and black cumin seeds. Asian-Australas J Anim Sci. 2018;31(12):1930-1938. doi: 10.5713/ajas.18.0148
7. Cowieson AJ, Ptak A, Mackowiak P, Sassek M, Pruszynska-Oszmalek E, Zyla K, Swiatkiewicz S, Kaczmarek S, Józefiak D. The effect of microbial phytase and myo-inositol on performance and blood biochemistry of broiler chickens fed wheat/corn-based diets. Poult Sci. 2013;92(8):2124-2134. doi: 10.3382/ps.2013-03140
8. Domínguez-Negrete A, Gómez-Rosales S, Angeles ML, López-Hernández LH, Reide Souza TC, López-García Y, Zavala-Franco A, Téllez-Isaias G. Effect of the addition of humic substances as growth promoter in broiler chickens under two feeding regimens. Animals. 2019;9(12):1101. doi: 10.3390/ani9121101
9. Duan J, Xu Z, Yang Z, Jiang J. Insight to microbial Fe(III) reduction mediated by redox-active humic acids with varied redox potentials. J Environ Res Public Health. 2021;18(13):6807. doi: 10.3390/ijerph18136807

10. Ghahri H, Habibian R, Fam MA. Evaluation of the efficacy of esterified glucomannan, sodium bentonite, and humic acid to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *Turk J Vet Anim Sci.* 2010;34(4):385-391. doi: 10.3906/vet-0903-19
11. Gomez-Rosales S, de L Angeles M. Addition of a worm leachate as source of humic substances in the drinking water of broiler chickens. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2015;28(2):215-222. doi:10.5713/ajas.14.0321
12. Hakan K, Gultekin Y, Ozge S. Effects of boric acid and humate supplementation on performance and egg quality parameters of laying hens. *Revista Brasileira de Ciência Avícola.* 2012;14(4):283-289. doi: 10.1590/S1516-635X2012000400008
13. Jaďuttová I, Marcinčáková D, Bartkovský M, Semjon B, Harčarová M, Nagyová A, Váczi P, Marcinčák S. The effect of dietary humic substances on fattening performance, carcass yield, biochemical blood parameters and bone mineral profile of broiler chickens. *Acta Vet. Brno.* 2019;88(3):307-313. doi: 10.2754/avb201988030307
14. Karadirek Ş, Kanmaz N, Balta Z, Demirçivi P, Üzer A, Hızal J, Apak R. Determination of total antioxidant capacity of humic acids using CUPRAC, Folin-Ciocalteu, noble metal nanoparticle- and solid-liquid extraction-based methods. *Talanta.* 2016;153:120-129. doi: 10.1016/j.talanta.2016.03.006
15. Klein OI, Kulikova NA, Konstantinov AI, Zykova MV, Perminova IV. A systematic study of the antioxidant capacity of humic substances against peroxy radicals: relation to structure. *Polymers.* 2021;13(19):3262. doi: 10.3390/polym13193262
16. Króliczewska B, Mišta D, Króliczewski J, Zawadzki W, Kubaszewski R, Wincewicz E, Szopa J. A new genotype of flax (*Linum usitatissimum* L.) with decreased susceptibility to fat oxidation: consequences to hematological and biochemical profiles of blood indices. *J Sci Food Agric.* 2017;97(1):165-171. doi: 10.1002/jsfa.7705
17. Kulikova NA, Perminova IV. Interactions between humic substances and microorganisms and their implications for nature-like bioremediation technologies. *Molecules.* 2021;26(9):2706. doi: 10.3390/molecules26092706
18. Liu CT, Brooks GA. Mild heat stress induces mitochondrial biogenesis in C2C12 myotubes. *J Appl Physiol.* 2012;112(3):354-361. doi: 10.1152/jappphysiol.00989.2011
19. Mao Y. Modulation of the growth performance, meat composition, oxidative status, and immunity of broilers by dietary fulvic acids. *Poult Sci.* 2019;98(10):4509-4513. doi: 10.3382/ps/pez281
20. Mohammadsadeghi F, Afsharmanesh M, Ebrahimnejad H. The substitution of humic material complex with mineral premix in diet and interaction of that with probiotic on performance, intestinal morphology and microflora of chickens. *Livestock Science.* 2019;228:1-4. doi: 10.1016/j.livsci.2019.07.010
21. Mudronova D, Karaffová V, Pešulová T, Koscova J, Maruščáková I, Bartkovský M, Marcinčáková D, Sevcíková Z, Marcincak S. The effect of humic substances on gut microbiota and immune response of broilers. *Food and Agricultural Immunology.* 2020;31(1):137-149. doi: 10.1080/09540105.2019.1707780
22. Salzman NH. Microbiota-immune system interaction: an uneasy alliance. *Current Opinion in Microbiology.* 2011;14(1):99-105. doi: 10.1016/j.mib.2010.09.018
23. Sihvo HK, Immonen K, Puolanne E. Myodegeneration with fibrosis and regeneration in the pectoralis major muscle of broilers. *Vet Pathol.* 2014;51(3):619-623. doi: 10.1177/0300985813497488
24. Simakova IV, Vasiliev AA, Korsakov KV, Sivokhina LA, Salautin VV, Gulyaeva LY, Dmitriev NO. Role of Humic Substances in Formation of Safety and Quality of Poultry Meat. In: Makan A, editor. *Humic Substances.* IntechOpen, 2021;5:128-186. doi: 10.5772/intechopen.96595
25. Taklimi SMSM, Ghahri H, Isakan MA. Influence of different levels of humic acid and esterified glucomannan on growth performance and intestinal morphology of broiler chickens. *Agric Sci.* 2012;3(5):663-668. doi:10.4236/as.2012.35080
26. Trekova M, Lorencova A, Babak V, Neca J, Ciganek M. The effect of leonardite and lignite on the health of weaned piglets. *Res Vet Sci.* 2018;119:134-142. doi: 10.1016/j.rvsc.2018.06.004

27. Vašková J, Patlevič P, Žatko D, Marcinčák S, Vaško L, Krempaská K, Nagy J. Effects of humic acids on poultry under stress conditions. *Slov Vet Res.* 2018;55(4):245-253. doi: 10.26873/SVR-469-2018
28. Wang J, Hu S, Nie S, Yu Q, Xie M. Reviews on mechanisms of in vitro antioxidant activity of polysaccharides. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016;5692852. doi: 10.1155/2016/5692852
29. Wang M, Li Y, Zhang Y, Hu X, Li Q, Su Y, Zhao W. Exploration of the H₂O₂ oxidation process and characteristic evaluation of humic acids from two typical lignites. *ACS Omega.* 2021;6(37):24051-24061. doi: 10.1021/acsomega.1c03257
30. Zheng XC, Wu QJ, Song ZH, Zhang H, Zhang JF, Zhang LL, Zhang TY, Wang C, Wang T. Effects of Oridonin on growth performance and oxidative stress in broilers challenged with lipopolysaccharide. *Poult Sci.* 2016;95(10):2281-2289. doi: 10.3382/ps/pew161
31. Zykova MV, Schepetkin IA, Belousov MV, Krivoshechekov SV, Logvinova LA, Bratishko KA, Yusubov MS, Romanenko SV, Quinn MT. Physicochemical characterization and antioxidant activity of humic acids isolated from peat of various origins. *Molecules.* 2018;23(4):753. doi: 10.3390/molecules23040753

Информация об авторах:

Ксения Сергеевна Нечитайло, научный сотрудник центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве», Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января д. 29.

Елена Анатольевна Сизова, доктор биологических наук, руководитель центра «Нанотехнологии в сельском хозяйстве», Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29, тел.: 8-912-344-99-07.

Information about the authors:

Ksenia S Nechitailo, Researcher, Center for Nanotechnology in Agriculture, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000.

Elena A Sizova, Dr. Sci. (Biology), Head of the Center for Nanotechnology in Agriculture, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000, tel.: 8-912-344-99-07.

Статья поступила в редакцию 27.10.2021; одобрена после рецензирования 27.10.2021; принята к публикации 13.12.2021.

The article was submitted 27.10.2021; approved after reviewing 27.10.2021; accepted for publication 13.12.2021.