

УДК 577.112

## ИЗМЕНЕНИЯ В ПРОТЕОМЕ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПТИЦЫ ПРИ ВКЛЮЧЕНИИ В РАЦИОН РАЗЛИЧНЫХ БЕЛКОВЫХ ДОБАВОК

© 2022 г. Д. Ю. Исмаилова<sup>1</sup>, О. С. Савинова<sup>2</sup>, Т. В. Фёдорова<sup>2</sup>, \*,  
Д. В. Васина<sup>2</sup>, В. Г. Волик<sup>1</sup>, В. С. Лукашенко<sup>3</sup>, И. П. Салеева<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт птицеперерабатывающей промышленности – филиал ФНЦ  
“ВНИТИП” РАН (ВНИИПП), п. Ржавки, Московская обл., Солнечногорский район, 141552 Россия

<sup>2</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы  
биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071 Россия

<sup>3</sup>Федеральный научный центр “Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт  
птицеводства” Российской академии наук (ФНЦ “ВНИТИП” РАН), Сергиев Посад, Московская обл., 141311 Россия

\*e-mail: fedorova\_tv@mail.ru

Поступила в редакцию 03.09.2021 г.

После доработки 01.11.2021 г.

Принята к публикации 15.11.2021 г.

Показано, что при введении в рацион кормления цыплят бройлеров ферментированной белковой кормовой добавки (ФКД), в протеомах грудных (*pectoralis*) и ножных (*femoralis*) мышц птицы отмечалось появление дополнительных фрагментов белков, являющихся биомаркерами нежности (актин, тропонин, тяжелые и легкие цепи миозина) и влагоудерживающей способности мяса (креатинкиназа М типа). Также присутствовали дополнительные изоформы белков, относящихся к различным комплексам электрон-транспортной цепи (комплекс цитохромов bc1, или комплекс III дыхательной цепи переноса электронов), характеризующих эффективность данного рациона кормления. Введение в рацион кормления птицы ФКД приводило также к повышению антиоксидантной емкости тканей грудных и ножных мышц бройлеров и снижению содержания жира в тканях ножных мышц.

**Ключевые слова:** бройлеры, белковая кормовая добавка, грудные мышцы (*pectoralis muscle*), ножные мышцы (*femoralis muscle*), протеом, антиоксидантная емкость, белковые маркеры качества мяса

**DOI:** 10.31857/S0555109922040067

Качество и безопасность продукции птицеводства во многом зависят как от технологии выращивания и содержания птицы, так и от рационов кормления. Сбалансированное кормление цыплят-бройлеров (цыплята определенных кроссов с высокой продуктивностью набора мышечной массы за короткий промежуток времени) предполагает использование рационов, содержащих безвредные и полноценные корма и добавки, которые позволяют наиболее полно реализовать генетический потенциал птицы и получить высокопитательную и безопасную пищевую продукцию.

В последнее время все более популярным становится замещение традиционных источников белка в рационе птицы гидролизатами вторичных продуктов животноводства [1, 2], в том числе птицеводства [3–5]. Внимание к таким подходам обусловлено тем, что содержащиеся в гидролизатах пептиды могут проявлять функциональную (регуляторную) и биологическую (противомик-

робную, антиоксидантную, антигипертензивную и иммуномодулирующую) активности.

Поскольку сочность, нежность, запах и вкус мяса цыплят зависят от разных факторов (генетических особенностей, условий кормления и содержания птицы, обработки и хранения тушек) [6], знание динамики роста, морфологии и биохимического состава мышечной ткани с учетом вида, породы, пола, условий содержания и кормления птицы представляет большой научный и практический интерес. Однако традиционные методы оценки качества мяса, такие как анализ текстуры, цветовых различий, влагоудерживающей способности (ВУС) и вкуса, не могут полностью достичь цели контроля и прогнозирования качества мяса [7–9]. Поэтому, в последние годы все большее внимание уделяется поиску и изучению биомаркеров, обуславливающих качественные характеристики мяса, с помощью протеомных технологий [10–18]. Протеомика становится важным и перспективным инструментом в области науки о мясе и позволяет исследова-

телям получить более глубокие знания об основных молекулярных механизмах, влияющих на качество мяса.

Хотя протеомные исследования были успешно применены для поиска биомаркеров и изучения молекулярных механизмов, связанных с качеством мяса домашних животных, таких как свиньи [19], коровы [20] и овцы [21], тем не менее, сообщения о подобных исследованиях на птице весьма ограничены. Так, были проведены протеомные исследования для выяснения влияния рациона питания на рост и качество мяса птицы [10, 11]. Исследователи обнаружили влияние дефицита аминокислот в рационе питания на протеом мышц и объяснили изменения в протеомах во время роста кур-несушек [11]. В результате изучения протеома индеек были обнаружены различия в быстром и нормально протекающем гликолизе в тканях грудных мышц и установлена их связь с качеством мяса [12]. Был проведен протеомный анализ мышц нативных и коммерческих цыплят-бройлеров [13] с целью определения взаимосвязи между белковым составом и нежностью мяса. Результаты показали, что гликолитические ферменты, такие как пируваткиназа, фосфоглицерат мутаза и триозофосфатизомераза, связаны с качеством мяса. Протеомная характеристика саркоплазматических белков в грудных мышцах была проведена для двух различных генотипов цыплят, включая коммерческих бройлеров Ross 708 и цыплят-леггорнов Hyline W-36 [15]. Результаты показали, что гликогенфосфорилаза, енолаза, креатинкиназа, фруктозо-бисфосфатацальдолаза и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа различались у этих двух штаммов в период роста грудных мышц. В работе [16] авторы изучили протеомный состав и дифференциальную экспрессию белков, экстрагированных из мышц молодняка кур с различной скоростью роста и отличающихся ВУС. Белки отличия, идентифицированные у разных групп цыплят с помощью двумерного электрофореза и масс-спектрометрии, включали такие метаболические ферменты как креатинкиназа и пируваткиназа. Эти исследования обозначили потенциал протеомных методов для выяснения биохимических основ изменения окраски, ВУС и текстуры мяса цыплят-бройлеров.

Цель работы – сравнительное исследование протеомов белого и красного мяса цыплят-бройлеров при выращивании на разных рационах кормления и анализ белковых биомаркеров качества мяса птицы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Кормовые добавки.** В качестве кормовых добавок животного происхождения при кормлении бройлеров использовали побочные продукты птицепереработки, такие как кровь, кишечник, перо,

которые подвергали кратковременному гидротермическому гидролизу (гидролизованная кормовая добавка – ГКД) [22] с последующим ферментативным гидролизом протеазами (ферментированная кормовая добавка – ФКД) [23], и рыбную муку – РМ (Марка МК – 0378, производитель “Капитан Назин”, Россия).

ГКД получали гидролизом побочных продуктов переработки птицы (перо, кишечник) в аппарате высокотемпературной обработки при 140–190°C в течение 60–90 с [22]. ФКД получали ферментацией побочных продуктов переработки птицы после гидротермической обработки [23]. Для гидролиза перьевого сырья использовали ферментные препараты Протозим С (“Биопрепарат”, Россия) и Novo-Pro D (“Novozymes”, Дания) из расчета 5–15 ед. протеолитической активности (МЕ) на г белка при гидромодуле 1 : 4, температуре 55–58°C, в течение 4 ч. Для ферментации кишечного сырья использовали ферментные препараты нейтрала и алкалаза (“Novozymes”, Дания) в дозе 5–10 МЕ/г белка при гидромодуле 1 : 1, температуре 50–52°C, продолжительности гидролиза 2–4 ч.

**Исследования *in vivo*.** Опыт по включению различных кормовых добавок в рацион цыплят бройлеров кросса “Смена” проводили в условиях вивария селекционно-генетического центра “Загорское Экспериментальное Племенное Хозяйство” ФНЦ ВНИТИП РАН (Россия). Для опыта были отобраны цыплята-бройлеры кросса “Смена 9” средней живой массой  $43 \pm 0.8$  г. Из них было сформировано случайным образом 4 группы по 35 голов в каждой.

Контрольная группа № 1 получала основной рацион без добавления кормовых добавок животного происхождения (табл. 1), а контрольная группа № 4 – основной рацион с добавлением рыбной муки. Опытные группы №№ 2 и 3 дополнительно к основному рациону до конца периода выращивания получали экспериментальные кормовые добавки (табл. 2). В опытной группе № 2 в качестве кормовой добавки использовали гидролизат побочных продуктов переработки птицы, полученный методом кратковременной высокотемпературной обработки (ГКД, гидролизованная кормовая добавка). В опытной группе № 3 – ферментированный гидролизат побочных продуктов переработки птицы (ФКД). Масса потребленного протеина в составе белковых добавок – 1.6 кг на 1 кг живой массы птицы.

В возрасте 38 дней были отобраны по 3 средних по живой массе бройлера из каждой группы. С целью оценки мясных качеств тушки цыплят после обескровливания подвергали анатомической разделке согласно методике [24]. После анатомической разделки были отобраны образцы мышечной ткани бедра и грудки цыплят бройлеров, проанализированы их физико-химические

**Таблица 1.** Рацион без добавления кормовых добавок животного происхождения

Компонент	Период выращивания, сут.			
	0–5 (престарт)	6–14 (старт)	15–22 (рост)	23–38 (финиш)
Пшеница 11.5%	32.70	33.90	34.80	37.00
Кукуруза 8.5%	20.00	19.34	20.55	20.00
Соевый шрот 44%	25.14	22.80	2.70	0
Соя полубеж 40%	15.00	16.00	25.60	24.14
Жмых подсолн. 34%	0	0	9.80	11.60
Масло соевое	2.80	3.50	2.50	3.50
Известняк Са 36%	1.10	1.12	1.05	0.96
Монокальцийфосфат	1.60	1.60	1.35	1.26
Лизин монохлоргидрат	0.23	0.27	0.31	0.29
Метионин	0.34	0.35	0.26	0.17
Соль	0.26	0.27	0.27	0.28
Треонин	0.12	0.14	0.10	0.10
Сульфат натрия	0.11	0.11	0.11	0.10
Холин хлорид	0.10	0.10	0.10	0.10
Премикс “Агрофид” 0.5%	0.50	0.50	0.50	0.50
Итого:	100	100	100	100
В 100 г комбикорма содержится, %				
Обменной энергии, ккал	305.0	310.0	310.0	320.0
Сырого протеина	23.03	22.54	21.0.3	20.01
Сырой клетчатки	3.79	3.69	4.46	4.57
Кальция	0.96	0.96	0.87	0.82
Фосфора общего	0.79	0.78	0.77	0.75
Фосфора усвояемого	0.48	0.48	0.43	0.41
Натрия	0.16	0.16	0.16	0.16
Хлориды	0.23	0.24	0.26	0.26
Лизина	1.37	1.23	1.22	1.12
Лизина усвояемого	1.23	0.66	1.09	1.00
Метионина + Цистина	1.03	1.03	0.95	0.84
Мет + Цистина усвояемого	0.93	0.96	0.84	0.73
Треонина	0.94	0.94	0.86	0.78
Треонина усвояемого	0.81	0.81	0.71	0.68

**Таблица 2.** Физико-химический, фракционный состав и антиоксидантная емкость кормовых добавок

Показатель, %	ГКД	ФКД	РМ
Массовая доля жира	6.6	11.7	13.0
Массовая доля протеина	26.0	76.1	74.3
Массовая доля золы	3.3	4.9	9.1
Массовая доля влаги	4.9	7.3	3.6
Пищевые волокна	59.2	—	—
Переваримость протеина	66.9	95.4	90.2
Антиоксидантная емкость (ORAC), мкмоль ТЭ/г	401.5 ± 50	1980 ± 100	152.8 ± 10
Массовая доля белковой фракции с Мг >10 кДа	32.8	4.9	7.9
Массовая доля белковой фракции с Мг 3–10 кДа	13.6	16.6	8.5
Массовая доля белковой фракции с <3 кДа	53.6	78.5	83.6

свойства (рН, содержание белка, жира, влаги и золы, ВУС), белковый состав и антиоксидантная емкость.

Содержание белка определяли согласно ISO 5983-1:2005; жира по ISO 6492:1999; влаги — по ISO 6496:1999; золы по ISO 5985:2002 и рН по ISO 2917:1974. ВУС определяли методом Грау-Хамма в модификации Журавской [25].

**Протеомный анализ экстрактов мышечной ткани бройлеров.** Анализ проводили методом двумерного электрофореза с масс-спектрометрической идентификацией отдельных белковых пятен. Использовали образцы мышечных тканей грудки и бедра бройлеров 4-х экспериментальных групп (табл. 3).

Для получения белковых экстрактов мышечные ткани бедра и грудки бройлеров измельчали в блендере (“Selecline”, Китай) в течение 5 минут до гомогенного состояния. Затем навеску измельченной мышечной ткани (100 мг) гомогенизировали с использованием гомогенизатора Поттера в 400 мкл лизис-буфера следующего состава (%): дитиотреитол (DTT, “Merck”, Германия) — 1; 3-(3-холамидопропил) диметиламмоний-3-пропансульфонат (CHAPS, “VWR Chemicals”, США) — 4; амфолины 3/10 (“Serva Electrophoresis”, Германия) — 5; 7 М мочевины и 2 М тиомочевина (“GE Healthcare”, США). Полученный экстракт центрифугировали в течение 10 мин при 800 g, отбিরали надосадочную жидкость и хранили при температуре –73°C до проведения анализа.

**Двумерный электрофорез (2-DE).** 2-DE электрофорез проводили по О’Фарреллу с изоэлектрофокусированием в амфолиновом градиенте рН 3–10 (“Serva Electrophoresis”, Германия), как было описано ранее в [26], на системе PROTEAN II xi 2-D Cell (“Bio-Rad”, США). Количество образца составляло 70 мкг белка на трубку. Электрофорез полученных после изоэлектрофокусирования

образцов проводили в градиентном акриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (ДДС-Na, 7.5–25%) при напряжении 300 В. Перед нанесением на второе направление образцы инкубировали 20 мин в растворе, содержащем дитиотреитол (мочевина — 6 М, ДДС-Na — 2%, DTT — 10 мМ, трис-HCl — 0.5 М, рН 6.8) для предотвращения окисления сульфгидрильных групп в белках. Для визуального анализа распределения белковых компонентов и масс-спектрометрического анализа гели окрашивали раствором AgNO<sub>3</sub> или Brilliant Blue R Staining Solution (“Sigma”, США).

Для получения белковых карт, использовали систему гельдокументирования Infinity1000/26MX (“Vilber Lourmat”, Франция). Анализ белковых карт проводили при помощи программного обеспечения ImageMaster 2D Platinum, v.7 (“GE Healthcare”, США).

**Масс-спектрометрический анализ белков.** Для масс-спектрометрического анализа вырезали кусочки геля размером 3–4 мм<sup>3</sup>, соответствующие белковым пятнам, и дважды промывали для удаления красителя в 100 мкл 40%-ного раствора ацетонитрила в 0.1 М NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> в течение 20 мин при 37°C. После удаления раствора, добавляли 100 мкл ацетонитрила для дегидратации геля. После удаления ацетонитрила и высушивания геля, добавляли раствор модифицированного трипсина (“Promega”, США) в 0.05 М NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> с концентрацией 15 мкг/мл. Гидролиз проводили в течение 8 ч при 37°C, затем к раствору добавляли 0.5%-ную трифторуксусную кислоту (ТФУ) в 10%-ном водном растворе ацетонитрила. Раствор, содержащий гидролизат белка, использовали для масс-спектрометрического анализа. В качестве матрицы использовали раствор 2,5-дигидрокси-

**Таблица 3.** Физико-химический состав грудных мышц (*pectoralis muscle*) и ножных мышц (*femoralis muscle*)

Показатель	Группа №							
	1 контроль		2 ГКД		3 ФКД		4 РМ	
	грудные мышцы	ножные мышцы	грудные мышцы	ножные мышцы	грудные мышцы	ножные мышцы	грудные мышцы	ножные мышцы
pH	5.79 ± 0.00	6.07 ± 0.00	5.80 ± 0.00	6.01 ± 0.00	5.99 ± 0.00	6.00 ± 0.00	5.82 ± 0.00	5.90 ± 0.00
Влага, %	73.2 ± 7.3	73.2 ± 7.3	72.8 ± 7.2	71.1 ± 7.1	72.8 ± 7.2	73.5 ± 7.3	73.1 ± 7.3	69.7 ± 6.9
Жир, %	1.8 ± 0.3	7.0 ± 1.0	1.3 ± 0.2	8.8 ± 1.3	1.3 ± 0.2	5.9 ± 0.9	1.3 ± 0.2	10.2 ± 1.5
Белок, %	23.7 ± 1.9	18.6 ± 2.8	24.5 ± 2.00	18.9 ± 2.8	24.5 ± 2.00	19.4 ± 2.9	24.1 ± 1.9	18.9 ± 2.8
Зола, %	1.22 ± 0.17	1.02 ± 0.15	1.30 ± 0.18	1.03 ± 0.15	1.30 ± 0.18	1.09 ± 0.16	1.35 ± 0.19	1.05 ± 0.15
ВУС, %	58.5	61.5	60.4	61.5	63.4	64.4	58.9	62.7

бензойной кислоты (“Aldrich”, США) 10 мг/мл в 20%-ном водном ацетонитриле и 0.5%-ной ТФУ.

Масс-спектры были получены на MALDI-времяпролетно-времяпролетном масс-спектрометре Ultraflex II (“Bruker”, Германия), оснащенный УФ-лазером в режиме положительных ионов с использованием рефлектрона. Точность измеренных масс моноизотопов после докалибровки по пикам автолиза трипсина составляла 0.005% (50 ppm). Спектры получали в диапазоне масс 700–4500 *m/z*, выбирая мощность лазера оптимальную для достижения наилучшего разрешения. Для получения спектров фрагментации использовали тандемную масс-спектрометрию MALDI TOF/TOF-MS, точность измерения фрагментных ионов была не ниже 1 Да.

Обработку масс-спектров осуществляли с помощью программного пакета FlexAnalysis 3.3 (“Bruker Daltonics”, Германия). Идентификацию белков проводили при помощи программы Mascot (www.matrixscience.com). Для этого, используя опцию “пептидный фингерпринт”, проводили поиск в базе данных NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) среди белков всех организмов с указанной выше точностью, с учетом возможного окисления метионина кислородом воздуха и возможной модификации цистеина акриламидом геля. Кандидатные белки, имеющие параметр достоверности score >76 в базе данных NCBI считали определенными надежно ( $p < 0.05$ ), белки, имеющие параметр достоверности score >50, считали вероятными. С использованием программного обеспечения Biotoools 3.2 (“Bruker Daltonics”, Германия) проведен поиск по объединенным результатам.

**Определение *in vitro* антиоксидантной емкости (АОЕ) в гомогенатах мышечной ткани бедра и грудки цыплят бройлеров.** Для определения АОЕ гидрофильных компонентов тканевых экстрактов, 200 мг ткани грудной мышцы или бедра птицы по-

мещали в пластиковую пробирку, добавляли 8 мл 11.5%-ного раствора хлорида калия. Гомогенизацию проводили в течение 5 мин при температуре 4°C в гомогенизаторе Silent Crusher S, снабженным насадкой 7F (“Heildolph”, Германия) при скорости 75 000 об./мин. Гомогенат центрифугировали в течение 20 мин при 30 000 g и температуре 4°C. Надосадочную жидкость отделяли и разводили в 50 мМ фосфатно-солевом буфере, pH 7.4, в 15–25 раз.

Анализ антиоксидантной емкости гомогенизированных образцов мяса грудной мышцы и бедра птицы измеряли по отношению к пероксильному радикалу. Пероксильный радикал генерировался непосредственно в реакционной среде при термическом распаде азосоединения 2,2'-азобис(2-метилпропионамида) дигидрохлорида (AAPH, “Sigma”, США), которое инициировалось инкубацией при 37°C в течение 10 мин [27]. АОЕ гидрофильных компонентов экстрактов мышечной ткани птицы по отношению к пероксильному радикалу выражали в мкмоль эквивалентов тролокса (ТЭ) в расчете на г ткани. Кинетику уменьшения флуоресценции регистрировали в течение 1 ч с интервалом измерений 60 сек на фотометре-флуориметре BioTek Synergy 2 (“BioTek”, США), в режиме регистрации интенсивности флуоресценции (длина волны возбуждения – 485 нм, длина волны испускания – 528 нм).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Физико-химические свойства грудных и ножных мышц птицы.** Результаты оценки влияния скармливания белковых кормовых добавок на физико-химический состав грудных и ножных мышц цыплят-бройлеров представлен в табл. 3. По показателям pH грудных и ножных мышечных тканей после забоя и анатомической разделки тушек не обнаружено принципиальных различий в

группах. Между тем в группах 2–4 цыплят-бройлеров наблюдалась общая закономерность снижения количества общей влаги по сравнению с контрольной группой 1, при этом в грудных мышцах содержание влаги было меньше контроля в группах 2 и 3, а в ножных мышцах – в группах 2 и 4. Содержание жира в грудных мышцах опытных птиц в группах 2–4 было достоверно ниже (примерно на 28%) относительно контрольной группы 1. Также содержание жира в ножных мышцах опытной группы 3 было ниже контрольной на 16%. В то же время в группах 2 и 4 содержание жира в ножных мышцах было выше на 26 и 46% соответственно по сравнению с контрольной группой 1.

Показано повышение содержания сырого протеина в грудных мышцах цыплят-бройлеров трех групп (группы 2, 3 и 4) примерно на 3.4%, в сравнении с контролем (группа 1). В то же время суммарное содержание белка в ножных мышцах цыплят из опытной группы 3 было выше на 4.3% по сравнению с остальными группами, что, по-видимому, является следствием увеличения усвоения белка у цыплят этой группы, получавших белковую кормовую добавку ФКД (табл. 3).

ВУС грудных и ножных мышечных тканей в опытной группе 3 была самой высокой среди всех групп и превосходила аналогичный показатель групп 1 и 4 на 8.4% для грудных мышц и на 4.7% для ножных мышц. Значение ВУС грудных мышц птицы, получавшей рацион с ГКД (группа 2), также было выше показателей групп 1 и 4 на 3.2%. Однако значение ВУС ножных мышц птицы из группы 2 имело близкие с контрольной группой 1 значения и несколько уступало значениям в группе 4.

Мясо птицы является наиболее полноценным и диетическим продуктом по сравнению с мясом других сельскохозяйственных животных, так как в нем содержится больше полноценных и меньше трудно усваиваемых белков (коллагена и эластина), что обуславливает его высокую питательную ценность. Увеличение содержания белка в мышечных тканях цыплят-бройлеров группы 3 повышало питательную ценность мяса птиц этой опытной группы. При этом показатели ВУС грудных и ножных мышечных тканей у данной опытной группы самые высокие, что свидетельствовало также о повышении качества мяса птиц, получавших рацион с кормовой добавкой ФКД.

Таким образом, показано, что включение в рацион цыплят-бройлеров кросса “Смена 9” экспериментальной кормовой белковой добавки ФКД наиболее существенно влияло на физико-химический состав мышечной ткани, по сравнению с ГКД и РМ, что в свою очередь положительно сказывается на питательной ценности и качестве мяса.

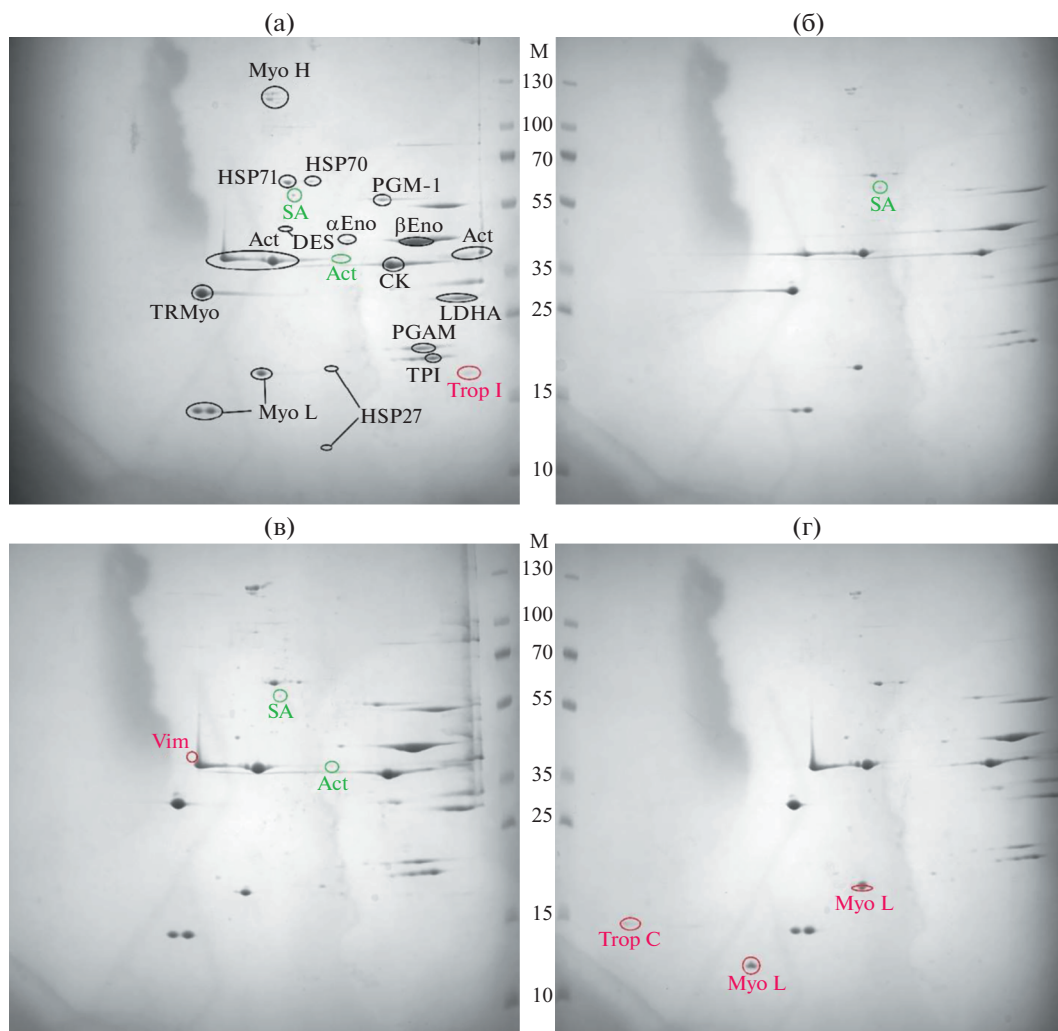
В настоящее время для исследования качества мяса и поиска биомаркеров, характеризующих его вкусовые качества, такие как нежность и влагоудерживающую способность, активно применяют протеомные методы [28, 29]. Кроме того, протеомика позволяет определять модификацию белков мышечных тканей, а именно фосфорилирование, окисление, деградацию и денатурацию [30]. В связи с этим в работе был изучен белковый состав образцов мышечных тканей птицы из разных групп и проведен их сравнительный анализ.

**Фракционный состав белковых экстрактов грудных и ножных мышц птицы.** В ходе исследования были получены протеомные карты образцов тканей грудных (*pectoralis muscle*) и ножных (*femoralis muscle*) мышц бройлеров (белое и красное мясо птицы соответственно) при различных рационах кормления (рис. 1 и 2).

Белковые фракции характеризовались различными изоточками *pI* и различными молекулярными массами. Фракционирование образцов методом двумерного электрофореза позволило идентифицировать до 150 белковых фракций (основные представлены в табл. 4). Большинство триптических спектров белков соответствовали последовательностям, существующим в базах данных для цыпленка (*Gallus gallus*), однако для некоторых гомологи были найдены у других видов. Среди идентифицированных белков более половины (61%) составляли белки структурной функции, в том числе фибриллярные белки: актин, миозин, тропомиозин и тропонин, также были идентифицированы виментин и парвальбумин. Изменения спектра структурных белков в образцах в основном обусловлены аминокислотными заменами или модификациями этих форм относительно белковых последовательностей, существующих в базах данных. Это вероятно связано с генетическими особенностями птиц, использованных в исследовании.

Кроме того, были идентифицированы ферменты, участвующие в гликолизе: енолаза, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (**GAPDH**), фосфоглицератмутатаза (**PGM**), лактатдегидрогеназа (**LDH**), триозофосфатизомераза и другие ферменты: АТФ-синтаза, малатдегидрогеназа, креатинкиназа (**СК**), а также различные белки семейства молекулярных шаперонов (**HSP70** и **HSP71**).

Проведенный протеомный анализ позволил выявить зоны локализации важных структурных мышечных белков: актинов, миозинов, тропомиозинов и тропонинов (рис. 1а и 2а). Как видно на рисунках, протеомные профили в группах 1–4 близки для образцов грудных мышц (рис. 1) и ножных мышц (рис. 2) птицы. Так, в каждой группе белков присутствуют “стабильные” формы, продукция которых неизменна от образца к



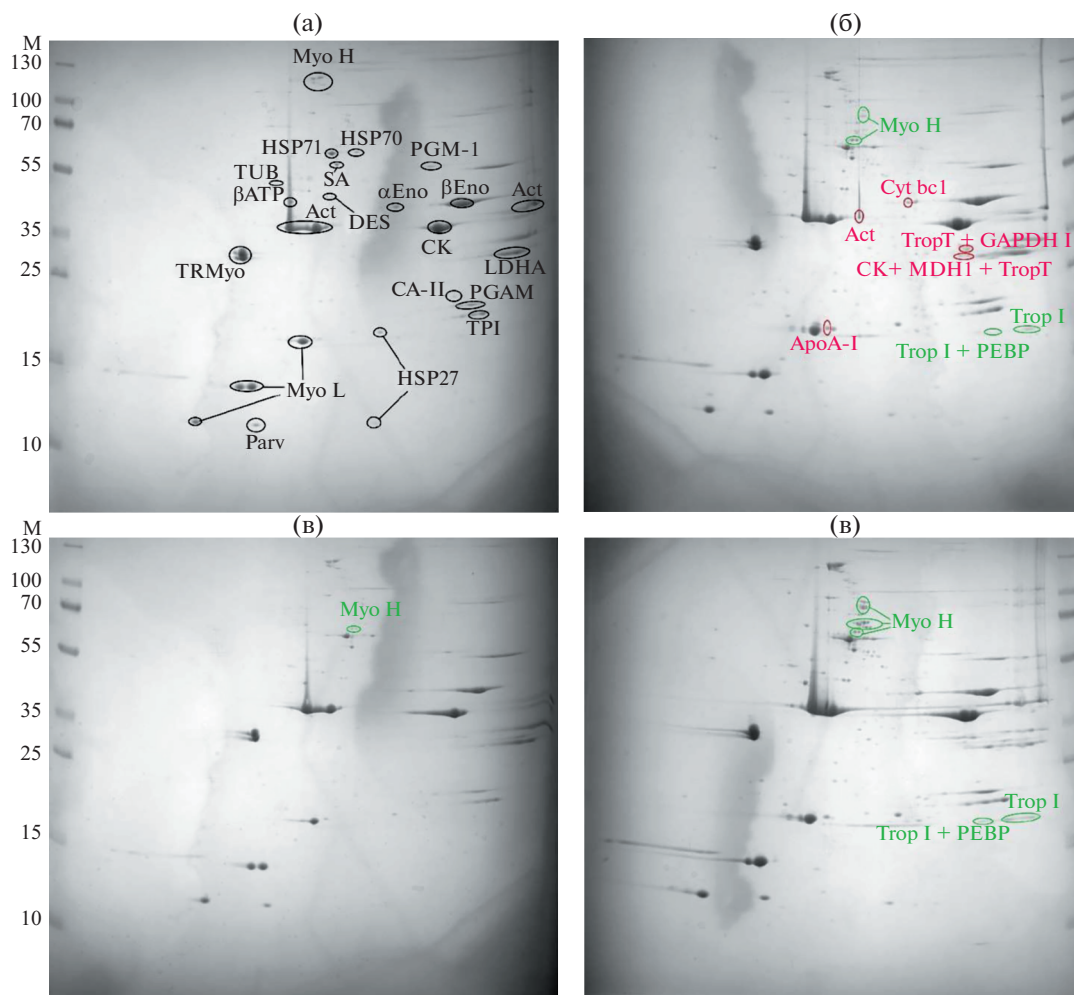
**Рис. 1.** Протеомный профиль образцов грудных мышц бройлеров групп 1(а), 3 (б), 2 (в) 4 (г). Черным обозначены белки, характерные для всех образцов, зеленым – присутствующие не во всех образцах, красным – уникальные; М – маркер молекулярной массы.

образцу. Тем не менее, были идентифицированы также индивидуальные белковые компоненты, изменяющиеся как количественно, так и качественно в зависимости от образца (рис. 1 и 2).

Показаны значительные изменения в профилях продукции трех групп белков мышечного сокращения (актина, миозина и тропонина) в зависимости от рациона питания. Обнаружены дополнительные фракции актина в протеоме грудных мышц птицы из группы 2: кардиальный альфа-актин 1 (ACTA1, KFW81934.1) и скелетномышечный альфа-актин (NP\_001026234.1) (рис. 1б). На протеомных картах ногных мышц птицы из группы 3 присутствовали дополнительные изоформы актина: скелетномышечный альфа-актин (NP\_001026234.1) и кардиальный альфа-актин 2 (AAX85445.1) (рис. 2в). В протеоме ногных мышц птицы из группы 4 также идентифицирова-

ны дополнительные изоформы скелетномышечного альфа-актина (NP\_001026234.1, рис. 2г).

На протеомных картах различался также состав фракций миозина: в грудных мышцах птицы из группы 2 обнаружено увеличенное содержание фракции тяжелых цепей миозина (AAB20215.1), по сравнению с образцами из других групп. В то же время в грудных мышцах птицы из группы 4 идентифицированы дополнительные изоформы легких цепей миозина (XP\_015144626.1). Что касается изоферментного состава тропонина в различных образцах, то в грудной мышце опытной группы 4 были обнаружены дополнительные изоформы тропонина С (NP\_990781.1 и NP\_990464.1, рис. 1г). В протеомах ногных мышц птицы из групп 3 и 4 идентифицированы фракции тропонина I (NP\_990748.1) и Т (XP\_015142062.1, NP\_990253.1) (рис. 2 в, г).



**Рис. 2.** Протеомный профиль образцов ножных мышц бройлеров групп 1(а), 3 (б), 2 (в) 4 (г). Черным обозначены белки, характерные для всех образцов, зеленым – присутствующие не во всех образцах, красным – уникальные; М – маркер молекулярной массы.

В процессе созревания мяса происходят существенные биохимические изменения в мышцах, влияющие на конечные характеристики качества мяса. Хорошо известно, что под действием протеолитических ферментов в мышцах *post-mortem* происходят автолитические изменения, в результате чего образуются фрагменты миофибриллярных белков актина, миозина и тропонина, которые можно рассматривать как молекулярные маркеры нежной структуры мяса [31]. Во многих исследованиях показано, что увеличение в протеомах мышц интенсивности белковых пятен легких и тяжелых цепей миозина, актина АСТА1, тропонина Т связано с нежностью мяса [32, 33].

Таким образом, в протеомах грудных и ножных мышц птицы, содержащейся на рационах с добавлением белковых кормовых добавок, отмечено наличие дополнительных фрагментов структурных

белков, таких как актин, тропонин и миозин (тяжелые и легкие цепи), по сравнению с первой контрольной группой бройлеров.

Стоит также отметить, что в образце грудных мышц бройлеров из группы 2 помимо увеличения содержания тяжелых цепей миозина, идентифицирован дополнительный белок виментин (**VIM**, vimentin, NP\_001041541.2), отсутствующий в других образцах. Белки виментин и десмин играют важную роль в поддержании citoархитектуры мышц и считаются надежными маркерами регенеративных процессов, протекающих в мышцах. Недавно проведенные исследования показали увеличение экспрессии гена *VIM*, а также увеличение содержания кодируемого им белка виментина в грудной мышце (*Pectoralis major*) быстрорастущих бройлеров с различными миопатиями, приводящими к развитию таких пороков мяса как появление идущих параллельно мышечным волок-



**Таблица 4.** Список белков в тканях грудных (*pectoralis*) и ножных (*femoralis*) мышц бройлеров кросса “Смена 9”, идентифицированных с помощью MALDI TOF/TOF-масс-спектрометрии

Идентифицированный белок	Обозначение на (рис. 1 и 2)	NCBI ID	Мм, кДа	pI	Индекс совпадения (Score)	E-value	Организм
<b>Структурные белки</b>							
<i>Актины</i>							
Кардиальный альфа-актин 1	Act	KFW81934.1	30	4.99	54	12	<i>Manacus vitellinus</i>
Актин альфа скелетно-мышечный*		NP_001026234.1	42	5.23	329	1.3e-030	<i>Gallus gallus</i>
Кардиальный альфа-актин 2		AAX85445.1	42.5	5.23	75	0.11	<i>Rana catesbeiana</i>
<i>Миозины</i>							
Легкая цепь миозина, изоформа скелетно-мышечная X1*	Myo L	XP_015144626.1	19	4.96	244	1.3e-18	<i>G. gallus</i>
Легкая цепь миозина 1, кардиальная изоформа X1		XP_015136535.1	22	5.13	96	2.3e-007	<i>G. gallus</i>
Тяжелая цепь миозина 1E, скелетно-мышечная	Myo H	NP_001013415.1	224	5.63	234	1.3e-17	<i>G.gallus</i>
Тяжелая цепь миозина*		AAB20215.1	222	5.61	412	2.1e-35	<i>G. gallus</i>
<i>Тропоины</i>							
Тропонин С скелетно-мышечный	Троп С	NP_990781.1	18	4.05	163	1.7e-10	<i>G. gallus</i>
Тропонина С сердечная/медленная скелетная изоформа		NP_990464.1	19	4.05	139	4.2e-08	<i>G. gallus</i>
Тропонин I скелетно-мышечный, быстрый тип*	Троп I	NP_990748.1	21	9.19	201	2.6e-14	<i>G. gallus</i>
Тропонин Т скелетно-мышечный, быстрый тип, изоформа X42	Троп Т	XP_015142062.1	30	9.19	112	2.1e-05	<i>G. gallus</i>
Тропонин Т скелетно-мышечный, быстрый тип		NP_990253.1	34	6.60	88	0.0058	<i>G. gallus</i>
<i>Тропомиозины</i>							
Тропомиозин альфа 1-цепь, изоформа X1*	TRMyo	AAA49113.1	31	4.64	423	1.2e-36	<i>G. gallus</i>
Тропомиозин альфа 1-цепь, изоформа X1*		XP_015134260.1	32	4.7	472	1.5e-41	<i>G. gallus</i>
Тропомиозин β-цепь, изоформа В		OPJ75462.1	30	4.63	329	3.1e-27	<i>Patagioenas fasciata monilis</i>

Таблица 4. Окончание

Идентифицированный белок	Обозначение на (рис. 1 и 2)	NCBI ID	Мм, кДа	pI	Индекс совпадения (Score)	E-value	Организм
<i>Другие</i>							
Парвальбумин мышечный	Parv	KFV44965.1	10	5.07	118	3.9e-06	<i>Tyto alba</i>
Виментин	Vim	NP_001041541.2	53	5.13	139	4.2e-08	<i>G. gallus</i>
<i>Ферменты</i>							
Креатинкиназа М-тип*	СК	NP_990838.1	44	6.50	365	1.00e-30	<i>G. gallus</i>
Цитоплазматическая малатдегидрогеназа	MDH1	NP_001006395.1	37	6.92	160	3.3e-10	<i>G. gallus</i>
Субъединица β митохондриального комплекса АТФ синтазы	βАТФ	NP_001026562.2	57	5.44	419	4.2e-36	<i>G. gallus</i>
Фосфоглюкомутаза-1*	PGM-I	NP_001033782.2	53	6.52	324	9.7e-27	<i>G. gallus</i>
<i>Гликолиз</i>							
α-Енолаза, изоформа Х3	α-Ено	XP_015152319.2	48	6.09	118	5.2e-06	<i>G. gallus</i>
β-Енолаза	β-Ено	NP_990450.1	48	7.28	223	1.7e-16	<i>G. gallus</i>
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа 1	GAPDH-I	AZN23181.1	39	6.27	126	8.3e-07	<i>G. gallus</i>
Триозофосфатизомераза*	TPI	NP_990782.1	27	6.71	393	1.7e-33	<i>G. gallus</i>
Лактатдегидрогеназа А*	LDHA	NP_990615.1	29	7.75	301	1.9e-24	<i>G. gallus</i>
Фосфоглицератмутаза-1*	PGAM	NP_001026727.1	22	7.03	217	4.9e-16	<i>G. gallus</i>
<i>Другие белки</i>							
Аполипопротеин А1	Аро А-I	AAA48597.1	31	5.58	615	1.00e-55	<i>G. gallus</i>
Цитохром-bc1-комплекс митохондриальный, субъединица 1	Cyt bc1	XP_414356.3	54	6.58	114	1.3e-05	<i>G. gallus</i>
Фосфатидилэтаноламин-связывающий белок 1	PEBP-I	NP_001185571.1	21	6.96	159	4.2e-10	<i>G. gallus</i>
Карбоангидраза II	СА II	CAA29417.1	30	6.56	127	6.6e-07	<i>G. gallus</i>
Сывороточный альбумин, прекурсор	SA	NP_990592.2	72	5.51	376	8.3e-32	<i>G. gallus</i>
Белок теплового шока 71	HSP71	XP_010147574.1	60	5.23	318	3.9e-26	<i>Eurypyga helias</i>
Белок теплового шока 70	HSP70	AAP37959.1	60	5.66	291	1.9e-23	<i>G. gallus</i>

\* Представлены наибольшие значения Score и E-value, если было идентифицировано несколько изоформ белка в одном образце.

нам белых полос (white stripes – WS) и синдром “деревянной груди” (wooden breast – WB) [34]. Таким образом, виментин может являться маркером аномального развития мышечных волокон *Pectoralis major* на ранних стадиях. Интересно, что в группах 2 и 4, получавших ферментированные белковые корма с более высоким содержанием аминокислот, низкомолекулярных пептидов и высокой переваримостью (табл. 2), виментин в грудных мышцах обнаружен не был. Известно, что мышечная дистрофия наблюдается при скормливания цыплятам рационов с недостаточным содержанием витамина Е, селена и серосодержащих аминокислот [34]. Включение же в рацион метионина, цистеина или увеличение содержания витамина Е способствует профилактике мышечной дистрофии у цыплят, причем комбинация антиоксидантов и омега-3 жирных кислот более действенна в борьбе с этим пороком мяса. Анализ антиоксидантной емкости кормовых добавок (табл. 2), используемых в данной работе, показал, что содержание антиоксидантов значительно выше в белковой добавке ФКД (1980 мкМоль ТЭ/г), по сравнению с ГКД (около 400 мкМоль ТЭ/г) и РМ (около 150 мкМоль ТЭ/г).

Вторую широко представленную группу в образцах протеомов мышц составляли ферменты (табл. 4). Основными растворимыми белковыми компонентами протеома являлись  $\alpha$ - и  $\beta$ -енолазы, лактатдегидрогеназа А, фосфоглицератмутаза, фосфоглюкомутаза, креатинкиназа, а кроме того триозофосфатизомераза. В грудной мышце птиц гликолиз является одним из основных путей получения энергии для сокращения мышц и для удовлетворения энергетических потребностей при росте. Чтобы поддерживать мышечную массу, а также удовлетворять потребности сократительной мускулатуры птицы нуждаются в значительном количестве энергии. Поэтому не удивительно, что во фракции растворимых белков преобладали преимущественно ферменты гликолиза. Для всех образцов в этой категории так же существует “минимальный” консервативный набор белков, не изменяющих свою продукцию. Основные отличия между образцами были зафиксированы в протеоме ножных мышц птицы из группы 3, где обнаружены дополнительные изоформы  $\alpha$ -енолазы (XP\_015152319.2), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (AZN23181.1), малатдегидрогеназы (NP\_001006395.1) и креатинкиназы (NP\_990838.1) (рис. 2в). Интересно отметить, что именно в этой опытной группе бройлеров отмечался наиболее интенсивный прирост мышечной массы, по сравнению с другими группами.

В ножных мышцах птицы из группы 3 обнаружен повышенный уровень белка креатинкиназы М-типа (NP\_990838.1), одного из четырех форм СК (рис. 2в). Известно, что СК является потенциальным биомаркером ВУС мяса [8], действи-

тельно значение ВУС ножных мышц птицы из группы 3 самое высокое (табл. 3). Ранее было показано [35], что продукция креатинкиназы М-типа и сывороточного альбумина была ниже в образцах с низкой ВУС [8].

Кроме того, в образцах мышечных тканей всех групп птиц были идентифицированы такие белки как фосфатидилэтанолламин-связывающий белок 1, карбоангидраза II и сывороточный альбумин (кроме группы 4) (табл. 4).

Известно, что обнаруженный фермент карбоангидраза II катализирует обратимую реакцию гидратации диоксида углерода и дегидратации угольной кислоты, участвует в поддержании рН-баланса в мышечных тканях. Фосфатидилэтанолламин-связывающий белок 1, который вместе с виментином является протеомным маркером ревматических заболеваний хрящевой ткани [36] и гомолог которого у людей способен взаимодействовать с Маркиназами [37].

Для образца № 3 (рацион ФКД) показано присутствие аполипопротеина А1 (АроА-I) в тканях ножных мышц бройлеров (табл. 4, рис. 2). АроА-I участвует в метаболизме липидов, и, являясь основным компонентом липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), играет важную роль в регуляции содержания холестерина в периферических тканях посредством его обратного транспорта в печень. Дефицит АроА-I связан с избыточным накоплением внутриклеточного холестерина у людей и птицы. Показано, что уровень экспрессии АроА-I снижается при геморрагическом синдроме жирной печени у кур [38], также показано снижение уровня экспрессии АроА-I в тканях бройлеров с высоким содержанием абдоминального жира [39]. Действительно, наличие фракции АроА-I в тканях ножных мышц бройлеров из группы 3 коррелировало с самым низким содержанием жира в мышечных тканях *femoralis muscle* среди всех групп –  $5.9 \pm 0.9\%$  (табл. 3).

В литературе предпринимались попытки ассоциировать экспрессию (и активность) митохондриальных белков с эффективностью рационов кормления (ЭРК) птиц [40]. Было показано, что активность комплексов I и II электрон-транспортной цепи выше в митохондриях образцов белого и красного мяса, полученных при высокой ЭРК. Экспрессию митохондриальных белков при низкой ЭРК связывают с низкой способностью передачи электронов в электрон-транспортной цепи при окислительном фосфорилировании.

Появление в образцах группы 3 дополнительных изоформ различных комплексов электрон-транспортной цепи свидетельствует об изменениях, происходящих в метаболизме.

Стоит отметить отсутствие различий в продукции шаперонового комплекса в протеоме птиц

**Таблица 5.** Антиоксидантная емкость (АОЕ) тканей грудных (*pectoralis*) и ножных (*femoralis*) мышц бройлеров кросса “Смена 9”, выращенных на различных рационах кормления

Группа, №	АОЕ, мкМоль ТЕ/г ткани	
	грудная мышца	ножная мышца
1	27.39 ± 1.9	24.85 ± 1.7
2	31.11 ± 1.6	23.18 ± 1.5
3	36.97 ± 2.0	31.29 ± 1.3
4	31.41 ± 1.8	25.53 ± 1.6

различных групп: для фракции белков HSP70 и HSP71 не было выявлено изменений в составе изоформ. Предполагается, что данные белки участвуют в регуляции процессов сборки и поддержания структуры мышечной ткани, в защите структурных белков, в том числе десмина, актина и титина при стрессе [41], а также в регуляции гликолиза [42]. При этом снижение их продукции ассоциируют с развитием PSE-синдрома, характерными признаками которого являются эксудативное бледное, мягкое, водянистое мясо с мягкой рыхлой консистенцией и выделением мясного сока вследствие пониженной ВУС [42, 43].

**Антиоксидантная емкость грудной и мышечной ткани птицы.** Из литературы известно, что АОЕ мышечной ткани влияет на качество мяса. Исследования показали, что окисление мышечных белков, вызванное окислительным стрессом, приводит к потере незаменимых аминокислот (например, триптофана) и влияет на ВУС белков мяса, цвет и текстуру получаемых мясных продуктов, а также на усвояемость мяса и приводит к снижению его пищевой ценности [44, 45]. Окисление миофибриллярных белков свиней также снижает их способность к гелеобразованию, что важно для текстурных и структурных характеристик мясных продуктов [46]. Как видно из представленных в табл. 5 результатов, самые высокие значения АОЕ мышечной ткани грудных и ножных мышц были получены для бройлеров из группы 3, получавших дополнительно к основному рациону ФКД.

Таким образом, при введение в рацион кормления цыплят бройлеров кросса “Смена 9” ферментированной белковой кормовой добавки, в протеомах грудных и ножных мышц птицы отмечены фрагменты белков, являющихся биомаркерами нежности (актин, тропонин, тяжелые и легкие цепи миозина) и ВУС мяса (креатин киназа М типа), а также появление дополнительных изоформ различных комплексов электрон-транс-

портной цепи (комплекс цитохромов bc1, или комплекс III дыхательной цепи переноса электронов), характеризующих эффективность данного рациона кормления. Введение в рацион кормления птицы ФКД приводило также к увеличению антиоксидантной емкости тканей грудных и ножных мышц бройлеров, и снижению содержания жира в тканях ножных мышц, что коррелировало с наличием в протеомах данных тканей аполипопротеина А1 (ApoA-I).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-16-01028).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Еремеев Н.Л., Николаев И.В., Керученко И.Д., Степанова Е.В., Сатрутдинов А.Д., Зиновьев С.В. и др. // Прикл. биохимия и микробиология. 2009. Т. 45. № 6. С. 717–724. <https://doi.org/10.1134/S0555109909060130>
2. Mamelona J., Saint-Louis R., Pelletier E., Mamelona J. // Int. J. Food Sci. Technol. 2010. V. 45. P. 147–154. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02114.x>
3. Khiari Z., Ndagijimana M., Betti M. // Poult. Sci. 2014. V. 93. P. 2347–2362. <https://doi.org/10.3382/ps.2014-03953>
4. Фисинин В.И., Исмаилова Д.Ю., Волик В.Г., Лукашенко В.С., Салеева И.П. // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 6. С. 1105–1115. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.6.1105rus>
5. Фисинин В.И., Лукашенко В.С., Салеева И.П., Овсейчик Е.А., Журавчук Е.В., Волик В.Г., Исмаилова Д.Ю. // Птицеводство. 2018. Т. 11. № 12. С. 20–22.
6. Силкина В.А. // Генетика и разведение животных. 2015. № 1. С. 26–29.
7. Piras C., Roncada P., Rodrigues P.M., Bonizzi L., Soggiu A. // Proteomics. 2016. V. 16. P. 799–815. <https://doi.org/10.1002/pmic.v16.5>
8. Vlachos A., Arvanitoyannis I.S., Tserkezou P. // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2013. V. 56. P. 1061–1096. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.691573>
9. Wu W., Fu Y., Therkildsen M., Li X.M., Dai R.T. // Food Rev. Int. 2015. V. 31. P. 13–28. <https://doi.org/10.1080/87559129.2014.961073>
10. Paredi G., Raboni S., Bendixen E., de Almeida A.M., Mozzarelli A. // J. Proteomics. 2012. V. 75. № 14. P. 4275–4289. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.04.011>
11. Corzo A., Kidd M.T., Dozier W.A., Shack L.A., Burgess S.C. // The British Journal of Nutrition. 2006. V. 95. № 4. P. 703–708. <https://doi.org/10.1079/bjn20051716>
12. Molette C., Remignon H., Babile R. // Poultry Science. 2005. V. 84. № 1. P. 119–127. <https://doi.org/10.1093/ps/84.1.119>
13. Mekchay S., Teltathum T., Nakasathien S., Pongpaichan P. // The J. Poultry Science. 2010. V. 47. № 1. P. 8–12.

14. Surowiec I., Koistinen K.M., Fraser P.D., Bramley P.M. // *Meat Science*. 2011. V. 89. № 2. P. 233–237.
15. Zapata I., Reddish J.M., Miller M.A., Lilburn M.S., Wick M. // *Poultry Science*. 2012. V. 91. № 7. P. 1654–1659.  
<https://doi.org/10.3382/ps.2011-02029>
16. Phongpa-Ngan P., Grider A., Mulligan J.H., Aggrey S.E., Wicker, L. // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011. V. 59. № 24. P. 13181–13187.
17. Laville E., Sayd T., Terlouw C., Blinet S., Pinguet J., Fil-laut M., Glannison J., Chérel P. // *J. Agric. Food Chem.* 2009. V. 57. № 11. P. 4913–4923.  
<https://doi.org/10.1021/jf900286x>
18. Marcos B., Mullen A.M. // *Meat Science*. 2014. V. 97. № 1. P. 11–20.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.12.008>
19. Sayd T., Morzel M., Chambon C., Franck M., Figwer P., Larzul C. et al. // *J. Agric Food Chem.* 2006. V. 54. P. 2732–2737.  
<https://doi.org/10.1021/jf052569v>
20. Bouley J., Meunier B., Chambon C., De S.S., Hoc-quette J.F., Picard B. // *Proteomics*. 2005. V. 5. P. 490–500.  
[https://doi.org/10.1002/\(\)1615-9861](https://doi.org/10.1002/()1615-9861)
21. Hamelin M., Sayd T., Chambon C., Bouix J., Laville E., Milenkovic D. et al. // *J. Anim. Sci.* 2007. V. 84. P. 3266–3276.  
<https://doi.org/10.2527/jas.2006-162>
22. Волик В.Г., Исмаилова Д.Ю., Зиновьев С.В., Еро-хина О.Н. // *Птица и птицепродукты*. 2017. № 2. С. 40–42.
23. Волик В.Г., Исмаилова Д.Ю., Лукашенко В.С., Сале-ева И.П., Фёдорова Т.В., Овсейчик Е.А., Журавчук Е.В., Зиновьев С.В. // *Ученые записки Казанского уни-верситета, серия естественные науки*. 2019. Т. 161. № 3. С. 422–439.  
<https://doi.org/10.26907/2542-064X.2019.3.422-439>
24. Лукашенко В.С., Лысенко М.А., Столяр Т.А. Методика проведения анатомической разделки тушек, органолептической оценки качества мяса и яиц сельскохозяйственной птицы и морфологии яиц. / Ред. В.С. Лукашенко. Сергиев Посад: ВНИТИП, 2013. 36 с.
25. Журавская Н.К., Алехина Л.Т. Отряженкова Л.М. Исследование и контроль качества мяса и мясо-продуктов. / *Агропромиздат*. Москва. 1985. 295 с.
26. Vasina D.V., Pavlov A.R., Koroleva O.V. // *BMC Microbiology*. 2016. V. 16. Article 106 (2016).  
<https://doi.org/10.1186/s12866-016-0729-0>
27. Nikolaev I.V., Sforza S., Lambertini F., Ismailova D.Yu., Khotchenkov V.P., Volik V.G. et al. // *Food Chemistry*. 2016. V. 197. Part A. P. 611–621.
28. Picard B., Lebreton B., Cassar-Malek I., Liaubet L., Berri C., Le Bihan-Duval E., Renand G. // *Meat Science*. 2015. V. 109. P. 18–26.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.003>
29. Huang H., Lametsch R. in *Proteomics in Foods: Principles and Applications*. / Ed. F. Toldrá, L.M.L. Nollet  
New York, Heidelberg, Dordrecht, London: Springer, 2013. P. 103–109.
30. D'Alessandro A., Marrocco C., Rinalducci S., Mirasole C., Faila S., Zolla L. // *J. Proteom.* 2012. V. 75. № 14. P. 4381–4398.
31. Luccia A. D., Picariello G., Cacace G., Scaloni A., Faccia M., Liuzzi V., Alviti G., Musso S. S. // *Meat Science*. 2005. V. 69. P. 479–491.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.10.004>
32. Beldarrain L.R., Aldai N., Picard B., Sentandreu E., Navarro J.L., Sentandreu M.A. // *J. Proteomics*. 2018. V. 183. P. 25–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.05.005>
33. Gagaoua M., Monteils V., Picard B. // *J. Agric. Food Chem.* 2018. V. 66. № 51. P. 13552–13563.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b05744>
34. Soglia F., Mazzoni M., Zappaterra M., Di Nunzio M., Babini E., Bordini M. et al. // *Front. Physiol.* 2020.  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01581>
35. Bottje W., Iqbal M., Tang Z.X., Cawthon D., Okimoto R., Wing T., Cooper M. // *Poult. Sci.* 2002. V. 81. № 4. P. 546–555.
36. Yeung K., Janosch P., McFerran B., Rose D.W., Mis-chak H., Sedivy J.M., Kolch W. // *Mol. Cell. Biol.* 2000. V. 20. № 9. P. 3079–3085.  
<https://doi.org/10.1128/mcb.20.9.3079-3085.2000>
37. Ghosh J.G., Houck S.A., Clark J.I. // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2007. V. 39. № 10. P. 1804–1815.
38. Song Y., Ruan J., Luo J., Wang T., Yang F., Cao H., Huang J., Hu G. // *Poult. Sci.* 2017. V. 96. № 10. P. 3559–3563.  
<https://doi.org/10.3382/ps/pex163>
39. Wang D., Wang N., Li N., Li H. // *Poult. Sci.* 2009. V. 88. № 11. P. 2285–2292.  
<https://doi.org/10.3382/ps.2009-00190>
40. Iqbal M., Pumford N.R., Tang Z.X., Lassiter K., Wing T., Cooper M. // *Poult. Sci.* 2004. V. 83. № 3. P. 474–484.  
<https://doi.org/10.1093/ps/83.3.474>
41. Laville E., Sayd T., Santé-Lhoutellier V., Morzel M., La-bas R., Franck M., Chambon C., Monin G. // *Meat Sci.* 2005. V. 70. P. 167–172.
42. Xing T., Wang P., Zhao L., Liu R., Zhao X., Xu X., Zhou G. // *Poultry Science*. 2016. V. 95. № 10. P. 2391–2396.  
<https://doi.org/10.3382/ps/pew181>
43. Xing T., Zhao X., Zhou G., Xu X. // *J. Agric. Food Chem.* 2017. V. 65. № 13. P. 2913–2922.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05835>
44. Lund M.N., Heinonen M., Baron C.P., Estévez M. // *Mol. Nutr. Food Res.* 2011. V. 55. P. 83–95.
45. Zhou F., Zhao M., Zhao H., Sun W., Cui C. // *Meat Sci.* 2014. V. 96. № 4. P. 1432–1439.
46. Carvalho M.E., Gasparin G., Poletti M.D., Rosa A.F., Balieiro J.C., Labate C.A., Coutinho L.L. // *Meat Sci-ence*. 2014. V. 96. № 3. P. 1318–1324.

## Changes in the Bird Muscle Tissue Proteome When Including Various Protein Supplements in the Diet

D. Yu. Ismailova<sup>a</sup>, O. S. Savinova<sup>b</sup>, T. V. Fedorova<sup>b, \*</sup>, D. V. Vasina<sup>b</sup>,  
V. G. Volik<sup>a</sup>, V. S. Lukashenko<sup>c</sup>, and I. P. Saleeva<sup>c</sup>

<sup>a</sup> All-Russian Research Institute of the Poultry Processing Industry,  
Moscow region, Solnechnogorsk district, village Rzhavki, 141552 Russia

<sup>b</sup> Bach Institute of Biochemistry Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

<sup>c</sup> Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Poultry Institute" of Russian Academy of Sciences,  
Moscow region, Sergiev Posad, 141311 Russia

\*e-mail: fedorova\_tv@mail.ru

It has been shown that when a fermented protein feed additive (FFA) is added to the diet of broiler chickens, the presence of additional protein fragments is noted in the proteomes of the pectoral (*pectoralis*) and leg (*femoralis*) muscles of the bird. These proteins (actin, troponin, myosin heavy and light chains) are biomarkers of tenderness and water-holding capacity of meat (type M creatine kinase). The presence of additional isoforms of various complexes of the electron transport chain (complex of cytochrome bc1, or complex III of the electron transport chain), characterizing the effectiveness of this diet, is also noted. In addition, the introduction of FFA into the poultry diet leads to an increase in the antioxidant capacity of the tissues of the pectoral and leg muscles of broilers and a decrease in the fat content in the tissues of the leg muscles.

**Keywords:** broilers, protein feed additive, *pectoralis muscle*, *femoralis muscle*, proteome, antioxidant capacity, protein markers of meat quality