

Свідоцтво про державну реєстрацію: № KB 21158-10958ПР від 23.01.2015.

**Проблематика:** фізіологія і біохімія, ветеринарна медицина, живлення та годівля, розведення і селекція тварин, морфологія, клітинна та молекулярна біологія, імунологія, генетика, екологія і токсикологія, цитологія, мікробіологія та біотехнологія; огляди актуальних проблем біології; методичні роботи, в яких описано нові або вдосконалені методи досліджень; статті з історії біологічної, ветеринарної та сільськогосподарської наук, що висвітлюють еволюцію ідей, виникнення і розвиток наукових шкіл або присвячені творчим портретам учених; дискусійні статті рецензій на нові книги та на журнальні публікації; наукова хроніка.

**Засновник:** Інститут біології тварин НААН.

**Рік заснування:** 1998. **Періодичність:** 4 рази на рік.

**Мова видання:** українська, англійська.

**Науковий журнал «Біологія тварин» індексується у** *The Index Copernicus International, Google Scholar, Cross Ref, WorldCat.*

**Головний редактор:** Салига Ю. Т., д. біол. н.

**Науковий редактор:** Вудмаска І. В., д. с.-г. н.

**Відповідальний секретар:** Грабовська О. С., к. біол. н.

**Комп'ютерна верстка:** Судин К. Ю.

**Certificate of print media State registration:** No. KB 21158-10958ПР of 23.01.2015.

**Aims and Scope:** physiology and biochemistry, veterinary medicine, nutrition and feeding animals, breeding and selection, morphology, cellular and molecular biology, immunology, genetics, ecology and toxicology, cytology, microbiology, biotechnology; reviews on actual problems of biology; methodical works describing new or improved research methods; articles about the history of biological, agricultural and veterinary sciences highlighting the evolution of ideas, the conception and development of scientific schools or dedicated to creative portraits of scientists; discussion reviews of the new books and the journal publications; scientific chronicle.

**Founder:** Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine.

**Published since:** 1998. **Periodicity:** 4 times per year.

**Language:** Ukrainian, English.

**The scientific journal "The Animal Biology" is included in:** *The Index Copernicus International, Google Scholar, CrossRef, WorldCat.*

**Editor-in-chief:** Yuriy Salyha, Dr. Sc.

**Scientific Editor:** Ihor Vudmaska, Dr. Sc.

**Editorial secretary:** Olexandra Grabovska, PhD.

**Page layout:** Kateryna Sudyn.

## РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Салига Юрій Тарасович, Інститут біології тварин НААН (Україна) — Голова колегії, головний редактор  
Вудмаска Ігор Васильович, Інститут біології тварин НААН (Україна) — заступник головного редактора

Антоняк Галина Леонідівна, Львівський національний університет імені І. Франка (Україна)

Бартлевський Павел, Ветеринарний коледж Онтаріо, Гуелфський університет (Канада)

Білий Ростислав Олександрович, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (Україна)

Войтюк Олександр, Уппсальський університет (Швеція)

Віщур Олег Іванович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Гавриляк Вікторія Василівна, Національний університет «Львівська політехніка» (Україна)

Гжегоцький Мечислав Романович, Львівський національний медичний університет ім Данила Галицького (Україна)

Гладій Михайло Васильович, Національна академія аграрних наук України (Україна)

Гунчак Алла Володимирівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Доліба Микола, Пенсильванський університет (США)

Жукорський Остап Мирославович, Національна академія аграрних наук України (Україна)

Заячківська Оксана Станіславівна, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (Україна)

Іскра Руслана Ярославівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Калачнюк Лілія Григорівна, Національний університет біоресурсів і природокористування України (Україна)

Кльоцек Чеслав, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Ковальські Зигмунд, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Ковальчук Ірина Іванівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Корпан Ярослав Ізидорович, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України (Україна)

Коцюмбас Ігор Ярославович, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок (Україна)

Кришталь Олег Олександрович, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України (Україна)

Кулік Джордж, Медичний центр Університету Вейк Форест (США)

Лесик Ярослав Васильович, Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка (Україна)

Луговий Богдан, Університет Маунт Сент Вінсент (Канада)

Лушак Володимир Іванович, Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника (Україна)

Мадіч Алла Всеволодівна, Кембриджський університет (Великобританія)

Мароунек Мілан, Інститут тваринництва (Чехія)

Медина Ігор, Середземноморський інститут нейробіології (Франція)

Мудрон Павел, Університет ветеринарної медицини та фармації в Кошице (Словаччина)

Муравські Мацей, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Остапів Дмитро Дмитрович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Півнева Тетяна Андріївна, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України (Україна)

Снітинський Володимир Васильович, Львівський національний аграрний університет (Україна)

Стапай Петро Васильович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Стибель Володимир Володимирович, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького (Україна)

Стойка Ростислав Степанович, Інститут біології клітини НАН України (Україна)

Тизьо Роман, Середземноморський інститут нейробіології (Франція)

Федорович Єлизавета Іллівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Федорук Ростислав Степанович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Шаран Микола Михайлович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

**Адреса редакції:** Інститут біології тварин НААН,  
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна.  
**Тел./ Факс:** (+380 32) 260-07-95, (+38 032) 270-23-89.  
**Електронна скринька:** editor\_j@inenbiol.com.ua.  
**Веб-сторінка:** <http://aminbiol.com.ua>

**Editorial Office:** Institute of Animal Biology NAAS,  
38 Stus str., Lviv, 79034, Ukraine.  
**Tel. / Fax:** (+38 032) 260-07-95, (+38 032) 270-23-89.  
**E-mail:** editor\_j@inenbiol.com.ua.  
**Website:** <http://aminbiol.com.ua>



ІНСТИТУТ  
БІОЛОГІЇ  
ТВАРИН  
НААН

ISSN 1681-0015 (print)

ISSN 2313-2191 (online)

DOI: 10.15407/animbiol

# БІОЛОГІЯ ТВАРИН

## The ANIMAL BIOLOGY

2021 ▪ Volume 23 ▪ Issue 2 ▪ Issue DOI: 10.15407/animbiol23.02

### EDITORIAL COUNCIL

**Yuriy Salyha**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine) — Head of the council, editor-in-chief

**Ihor Vudmaska**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine) — deputy chief editor

**Halyna Antonyak**, Ivan Franko National University of Lviv (Ukraine)

**Pawel Bartlewski**, Ontario Veterinary College, University of Guelph (Canada)

**Rostyslav Bilyy**, Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Ukraine)

**Nicolai M. Doliba**, University of Pennsylvania (United States)

**Yelyzaveta Fedorovych**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)

**Rostyslav Fedoruk**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)

**Mykhailo Gladij**, The National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (Ukraine)

**Mechyslav Gzhegotskyi**, Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Ukraine)

**Viktoriiia Havryliak**, Lviv Polytechnic National University (Ukraine)

**Alla Hunchak**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)

**Ruslana Iskra**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)

**Liliia Kalachniuk**, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Ukraine)

**Czesław Kłoczek**, University of Agriculture in Kraków (Poland)

**Yaroslav Korpan**, Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine (Ukraine)

**Igor Kotsyumbas**, State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives (Ukraine)

**Iryna Kovalchuk**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)

**Zygmunt Maciej Kowalski**, University of Agriculture in Kraków (Poland)

**Oleg Krishtal**, Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine (Ukraine)

**George Kulik**, Wake Forest University (United States)

**Yaroslav Lesyk**, Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University (Ukraine)

**Bohdan Luhovyy**, Mount Saint Vincent University (Canada)

**Volodymyr Lushchak**, Vasyl Stefanyk Precarpathian National University (Ukraine)

**Alla Madich**, University of Cambridge (United Kingdom)

**Milan Marounek**, Institute of Animal Science (Czech Republic)

**Igor Medina**, Mediterranean Institute of Neurobiology (France)

**Pavol Mudroň**, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice (Slovak Republic)

**Maciej Murawski**, University of Agriculture in Kraków (Poland)

**Dmytro Ostapiv**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)

**Tatyana Pivneva**, Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine (Ukraine)

**Mykola Sharan**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)

**Volodymyr Snityns'kyi**, Lviv National Agrarian University (Ukraine)

**Petro Stapay**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)

**Rostyslav Stoika**, Institute of Cell Biology NAS of Ukraine (Ukraine)

**Volodymyr Stybel**, Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv (Ukraine)

**Roman Tyzio**, Mediterranean Institute of Neurobiology (France)

**Oleg Vishchur**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)

**Oleksandr Voytyuk**, Uppsala University (Sweden)

**Oksana Zayachkivska**, Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Ukraine)

**Ostap Zhukorskyi**, The National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (Ukraine)

## ЗМІСТ

<i>Chepurna V. A., Suprovych T. M., Vishchur O. I., Mizik V. P., Solovodzinska I. Ye.</i> Influence of liposomal drug on the intensity of proteins oxide modification processes in subclinical mastitis of cows .....	3
<i>Kozyr V. S.</i> Innovative technology of obtaining organic marble beef .....	8
<i>Сябро А. С.</i> Проксидантно-антиоксидантний гомеостаз та відтворювальна здатність кнурів-плідників за впливу цитрату міді .....	12
<i>Осадча Ю. В.</i> Діагностичне значення інтегральних імуногематологічних індексів як маркерів хронічного стресу у курей .....	19
<i>Рук Т. М.</i> Ендогенні ретровіруси PERV A/C у геномах свиней українських порід та їх зв'язок з рівнем осалюваності туш .....	26
<i>Ніпот О. Є., Шапкіна О. О., Зубов П. М., Орлова Н. В., Шпакова Н. М.</i> Роль етапу дегідратації в розвитку постгіпертонічного гемолізу еритроцитів ссавців .....	32
<i>Сачко С. Р., Вудмаска І. В., Невоструєва І. В., Сачко Р. Г., Петрук А. П.</i> Вплив шишок хмелю і вітаміну Е на кетогенез та антиоксидантний статус корів .....	37
<i>Ніколаєва Ю. В., Данченко О. О.</i> Особливості впливу екстракту вівса посівного на антиоксидантну активність печінки гусей .....	41
<i>Безпалый І. Ф., Постоєнко В. О., Мерзлов С. В., Король-Безпала Л. П.</i> Відпрацювання технології і доз застосування нативної та іммобілізованої інвертази у бджільництві .....	46

---

## CONTENTS

<i>Chepurna V. A., Suprovych T. M., Vishchur O. I., Mizik V. P., Solovodzinska I. Ye.</i> Influence of liposomal drug on the intensity of proteins oxide modification processes in subclinical mastitis of cows .....	3
<i>Kozyr V. S.</i> Innovative technology of obtaining organic marble beef .....	8
<i>Siabro A. S.</i> Prooxidant-antioxidant homeostasis and reproductive capacity of boars under the influence of copper citrate .....	12
<i>Osadcha Yu.</i> Diagnostic value of integrated immunohematological indices as markers of chronic stress in laying hens .....	19
<i>Ryk T. M.</i> Endogenic retroviruses of PERV A/C in genome of Ukrainian pigs and their relationship with the level of fat in carcasses .....	26
<i>Nipot O. E., Shapkina O. O., Zubov P. M., Orlova N. V., Shpakova N. M.</i> The role of the dehydration stage in the post-hypertonic hemolysis of mammalian erythrocytes .....	32
<i>Sachko S. R., Vudmaska I. V., Nevostruyeva I. V., Sachko R. G., Petruk A. P.</i> Effect of hop cones and vitamin E on ketogenesis and antioxidant status in transition dairy cows .....	37
<i>Nikolaeva Yu. V., Danchenko O. O.</i> Features of the influence of oat extract on the antioxidant activity of goose liver .....	41
<i>Bezpalyy I. F., Postoienko V. O., Merzlov S. V., Korol-Bezpalaa L. P.</i> Development of technology and doses of native and immobilized invertase in beekeeping .....	46



## Influence of liposomal drug on the intensity of proteins oxide modification processes in subclinical mastitis of cows

V. A. Chepurna<sup>1</sup>, T. M. Suprovych<sup>1</sup>, O. I. Vishchur<sup>2</sup>, V. P. Mizik<sup>1</sup>, I. Ye. Solovodzinska<sup>3</sup>

valentinachepurna70@gmail.com

<sup>1</sup>Podillia State University,

13 Shevchenko str., Kamianets-Podilskyi, Khmelnytsky region, 32316, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Animal Biology NAAS,

38 V. Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

<sup>3</sup>Lviv National Agrarian University,

1 Volodymyr Velykyi str., Dubliany, Zhovkva district, Lviv region, 80381, Ukraine

The article contains the experimental studies of the liposomal drug based on plant raw materials — hypericum (*Hypericum perforatum* L.) effect on the intensity of oxidative modification of proteins (OMP) in the blood and milk of cows with subclinical mastitis. Studies have shown that cows with signs of subclinical form of mastitis in the serum have an increase in the content of aldehyde-derived OMP<sub>370</sub> and ketone-derived OMP<sub>430</sub>, respectively, 1.3 and 1.2 times relative to similar indicators in healthy animals. In the milk of sick cows, the content of derivatives OMP<sub>370</sub> and OMP<sub>430</sub> was 1.99 and 2.29 times higher, respectively, than in animals of the control group. At the beginning of the study sick cows' milk was recorded a significantly low value of the activity of the enzymatic link of antioxidant protection — superoxide dismutase. At the same time, a 2.6-fold ( $P < 0.001$ ) increase in the number of somatic cells was noted compared to their number in the milk of clinically healthy cows. Intracisternal injection of liposomal drug to cows caused a decrease in the intensity of oxidative processes. In the blood of sick cows the content of aldehyde derivatives OMP<sub>370</sub> on the 9<sup>th</sup> day of the experiment was 23.1% ( $P < 0.05$ ) less than before the drug, and in milk the content of OMP<sub>370</sub> decreased by 61.8% ( $P < 0.01$ ). Similar changes were observed with respect to the level of ketone derivatives. In particular, on the 9<sup>th</sup> day of the experiment, the content of OMP<sub>430</sub> decreased by 11.7% ( $P < 0.05$ ) compared with its value in the blood of sick animals before the introduction of the study drug, and in milk it decreased by 64.2% ( $P < 0.01$ ). During the treatment on the 9<sup>th</sup> day of the experiment, the number of somatic cells in milk decreased by 41.8% ( $P < 0.01$ ). In the course of treatment on the 3<sup>rd</sup> and 9<sup>th</sup> day there was a tendency to increase superoxide dismutase activity in the milk of sick cows compared with the beginning of the experiment. Thus, intracisternal injection of liposomal drug to cows with subclinical mastitis leads to a decrease in aldehyde and ketone derivatives of proteins oxidative modification in serum and milk. At the same time, an increase in the activity of the enzymatic link of antioxidant protection and a decrease in the number of somatic cells in the milk of cows were recorded.

**Key words:** cows, subclinical mastitis, somatic cells, oxidative modification of proteins, liposomal drug

The problem of cattle mastitis in Ukraine is defined by researchers as the main issue of the livestock industry. Because of the widespread spread of udder diseases among cows, dairy farming and processing industry suffer significant economic losses due to reduced dairy productivity, deteriorating quality of milk and dairy products [11].

Milk undergoes significant physicochemical changes during mastitis which seriously affects the technological processes of its processing into dairy products, especially reducing their quality [10].

Any pathological processes in the body are accompanied by the activation of free radical processes in the tissues and organs of a sick animal. Free radicals in-



clude compounds that contain unpaired electrons and have a much greater reactivity to their non-radical counterparts [8, 13]. All functionally important free radicals that are formed in the body contain oxygen.

These compounds are combined by the term “reactive oxygen species” (ROS). The main forms of ROS generated in a living organism are: superoxide radical, hydroxyl radical, nitric oxide, peroxy radical, hydrogen peroxide and others. The main forms of ROS are primarily normal components of cellular metabolism and perform certain biological functions. Their reactive aggressiveness is restrained by a powerful antioxidant system. However, with the development of pathological processes, this balance is disturbed in the direction of uncontrolled synthesis of ROS, which ends with the formation of oxidative stress.

It is established that under conditions of oxidative stress and excessive ROS generation, the processes of proteins uncontrolled modification develop, causing protein fragmentation, their denaturation, as well as the formation of primary amino acid radicals, which then enter into secondary interaction with neighboring amino acid residues. All these in total create a difficult situation of the damaging effect of ROS on protein macromolecules. This leads to the loss of proteins biological activity and disruption of metabolic, in particular regenerative processes [4].

In view of the various functions of proteins in animals, as well as taking into account the data of literature sources on the primary damage of protein molecules ROS [1, 6], the study of peroxidation processes, especially proteins, is important.

Destruction of cellular proteins in the process of oxidative modification of proteins (OMP) in proteosomes leads to cell death [12], i.e. a direct link between the processes of OMP and many diseases is established [15]. It is believed that the level of OMP compared to the level of lipid peroxidation (LPO) is a more informative marker of the presence of oxidative stress in the body [16].

Both LPO and OMP are normal functional processes in the body that involve vital functions. Moreover, the processes of OMP are largely associated with protective and adaptive reactions of the organism. However, the violation of protective reactions leads to a decrease in the body's resistance. Thus, oxidative modification of proteins plays a key role in the molecular mechanisms of oxidative stress, which is an important part of many pathological processes in the body in various diseases and requires further study. The aim of the study was to determine the effect of liposomal drug on the intensity of oxidative modification of proteins in blood and milk, as well as on superoxide dismutase activity in the milk of cows with subclinical mastitis.

## Materials and Methods

We hereby declare all ethical standards have been respected in the preparation of the submitted article. Permission to use animals approved by the State

Agrarian and Engineering University in Podillya in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes.

Experimental studies were conducted at LLC “Lany-Vinkovechchyna” (Khmelnitsky region) on cows which were divided into two groups: control (healthy animals) and experimental, 7 animals in each group, based on the analogue's principle. The experimental group was formed from animals with subclinical mastitis (CM) [2].

Subclinical mastitis was determined by the reaction of secretion from each quarter on a milk control plate with 2% solution of mastidine. Cows of the experimental group in the affected quarters of the udder were injected intracisternally liposomal drug three times with an interval of 24 hours — the first day 10 cm<sup>3</sup>, the next two days — 5 cm<sup>3</sup>. Before the drug injection cows were milked by hand, the teats were disinfected. After drug injection, the udder was massaged from the bottom to the top for its even distribution. The cows were transferred to manual milking. Half of the therapeutic dose was prophylactically injected to healthy quarters of the udder.

A liposomal drug made on the basis of plant raw materials is an antibacterial preparation developed in the laboratory of immunology of the Institute of Animal Biology NAAS. The composition of the drug: novomanin — extract from *Hypericum perforatum* L., vitamins A, D<sub>3</sub>, E, lecithin, twin. The drug is active against gram-positive bacteria including *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae*. The anti-inflammatory effect is due to the presence of flavonoids in the drug. It has the ability to heal the wound surface and stimulates tissue regeneration [3].

For biochemical studies, cows were bled from the jugular vein before morning feeding on the 1<sup>st</sup> day (before drug injection), on the 3<sup>rd</sup> and 9<sup>th</sup> day after its use.

The level of oxidative damage of proteins was evaluated by the content of aldehyde (OMP<sub>370</sub>) and ketone derivatives (OMP<sub>430</sub>) of oxidative modification of proteins in reaction with 2,4-dinitrophenylhydrazine [7]. Superoxide dismutase activity in cows' milk was determined by the method described by E. E. Dubinina [5].

To control the recovery of milk quality, we used the analyzer AMB 1-02 designed to measure the conditional milk stickiness and calculate the concentration of somatic cells in it [9]. Statistical data processing was performed using *Microsoft Excel* software.

## Results and Discussion

Free radicals with high reactivity are formed as a result of metabolic transformations of substances under the action of pathogenic factors in the body of animals. Formed in the body, they interact with the components of the cell, cause damage to cell membranes, thus accompanying the development of the pathological process. Protein degradation is a more reliable mark-

er of oxidative tissue damage than lipid peroxidation products (LPO) because protein oxidative modification (OMP) derivatives are more stable.

As a result of our research, it was found that before treatment animals with signs of mastitis have blood content of oxidative modification of proteins, namely: aldehyde-derived OMP<sub>370</sub> and ketone-derived OMP<sub>430</sub> that is 1.3 and 1.2 times higher than the blood of control cows groups (table 1). The introduction of the studied liposomal drug caused a decrease in the intensity of oxidative processes, as indicated by a decrease of 23.1% ( $P<0.05$ ) of aldehyde derivatives OMP<sub>370</sub> in the

experimental group cows blood on the 9<sup>th</sup> day of the experiment than before the introduction of liposomal drug. Similar changes were observed with respect to the level of ketone derivatives. Thus, on the 9<sup>th</sup> day of the experiment, the content of OMP<sub>430</sub> decreased by 11.7% compared with the value of this indicator in the blood of sick animals before the introduction of the study drug ( $P<0.05$ ). These data indicate the inhibitory effect of the components of the studied liposomal drug on the intensity of oxidative modification of proteins in the blood of cows with subclinical mastitis [14].

**Table 1.** The content of aldehyde and ketone starting oxidative modification of proteins in the serum of cows ( $M\pm m$ ;  $n=7$ )

Parameters	Control group	Experimental group		
		before treatment	3 <sup>rd</sup> day of treatment	9 <sup>th</sup> day from the beginning of treatment
OMP <sub>370</sub> , nmol/mg protein	21.34±1.64	27.46±1.23**	24.53±2.05	21.45±1.96*
OMP <sub>430</sub> , nmol/mg protein	32.18±1.32	38.65±2.08**	37.6±2.06	32.92±2.35*

*Note.* \* —  $P<0.05$  — probability in animals of this group compared to the indicators before drug injection (1<sup>st</sup> day of the experiment);

\*\* —  $P<0.05$  — the difference is significant compared to the control group data.

Research has shown that before treatment cows with signs of mastitis have the content of derivatives OMP<sub>370</sub> and OMP<sub>430</sub> in milk 1.99 and 2.29 times higher compared with similar indicators of cows in the control group (table 2).

The content of both aldehyde and ketone derivatives of oxidative modification of proteins in cows' milk probably decreased in the dynamics of treatment, which is also an important diagnostic indicator of normalization of the intensity of oxidation processes and confirms the effectiveness of the study drug. Thus, the content of aldehyde derivatives OMP<sub>370</sub> in the milk of the experimental group cows on the 3<sup>rd</sup> and 9<sup>th</sup> day of the experiment was 36.8 and 61.8% ( $P<0.01$ ), respectively, less than before

the drug injection. Similar changes were observed with respect to the level of ketone derivatives. In particular, on the 3<sup>rd</sup> day of the experiment, the content of OMP<sub>430</sub> in milk decreased by 40.6%, and on the 9<sup>th</sup> — by 64.2% ( $P<0.01$ ) compared with the value of this indicator in sick animals before the introduction of the study drug.

On the 3<sup>rd</sup> and 9<sup>th</sup> day during treatment, there is a tendency to increase superoxide dismutase activity in the milk of the experimental group animals compared with the indicator at the beginning of the experiment. The obtained results confirm that the components of the drug cause a regulatory effect on the intensity of oxidation and maintenance of pro- and antioxidant balance in the body of sick cows.

**Table 2.** The content of derivatives of oxidative modification of proteins and superoxide dismutase activity in cow's milk ( $M\pm m$ ;  $n=7$ )

Parameters	Control group	Experimental group		
		before treatment	3 <sup>rd</sup> day of treatment	9 <sup>th</sup> day from the beginning of treatment
OMP <sub>370</sub> , nmol/mg protein	7.78±1.84	15.47±2.25**	10.12±1.54	6.25±1.16*
OMP <sub>430</sub> , nmol/mg protein	6.14±1.72	14.06±2.08**	8.65±1.43	5.32±0.96*
SOD, unit of action/mg min.	11.96±1.86	11.84±2.34	12.34±1.65	13.47±1.85

*Note.* In this and the next table \* —  $P<0.01$  — probability in animals of this group compared to the indicators before drug injection (1<sup>st</sup> day of the experiment); \*\* —  $P<0.001$  — the difference is significant compared to the control group data.

Before treatment a significant increase in the number of somatic cells of 2.6 times ( $P < 0.001$ ) is observed in the milk of the experimental animals group, compared with clinically healthy animals, which is associated with the subclinical form of mastitis (table 3). The introduction of the studied liposomal drug revealed a decrease in the number of somatic cells from the third day of treatment, and on the 9<sup>th</sup> day of the experiment the number

of somatic cells in the secretion of the mammary gland of the experimental group cows was lower by 41.8% ( $P < 0.01$ ) than in the beginning of the experiment, and differences compared to animals in the control group were not significant. These data indicate a normalizing effect of the study drug components on the content of somatic cells in the milk of cows suffering from a subclinical form of mastitis.

**Table 3.** The content of somatic cells in the milk of cows ( $M \pm m$ ;  $n=7$ )

Parameters	Control group	Experimental group		
		before treatment	3 <sup>rd</sup> day of treatment	9 <sup>th</sup> day from the beginning of treatment
SC, thousand/cm <sup>3</sup>	259.3±40.05	667.9±64.9**	573/7±52/08**	388/7±44/97*

Thus, the use of liposomal drug contributed to a prolonged decrease in the intensity of oxidative processes, as well as the number of somatic cells in milk, due to both normalizing and stimulating effect of drug components on the activity of these protective mechanisms in cows suffering from subclinical mastitis.

## Conclusion

Intracisternal injection of the studied liposomal drug to animals led to a decrease in the content of products of oxidative modification of proteins ( $P < 0.05-0.01$ ). At the same time, the use of the drug caused a decrease in the number of somatic cells in the milk of cows by 41.8% ( $P < 0.01$ ) with a simultaneous increase in superoxide dismutase activity compared to pre-treatment values.

## Prospects for Further Research

It is planned to conduct a comprehensive functional study of immunocompetent cells, under the conditions of using a new complex liposomal drug in the treatment of cows with a clinical form of mastitis.

- Bhattacharyya J, Chowdhury TD, Datta AG. Effect of endotoxin on protein degradation and lipid peroxidation of erythrocytes. *J. Physiol. Pharmacol.* 1999; 50 (2): 321–326. PMID: 10424726.
- Чепурна В, Супрович Т, Віщур О, Мизик В. Condition of T- and B-cellular links of immunity in cows, the sick subclinic form of mastitis, when using a liposomal drug. *Agr. Bull. the Black Sea Littoral.* 2020; 96: 44–51. Available at: <https://abbsl.osau.edu.ua/index.php/visnuk/article/view/126> (in Ukrainian)
- Чепурна ВА, Супрович ТМ, Віщур ОІ, Мизик ВП. System of antioxidant protection in cows suffering from subclinical form of mastitis with the use of liposomal preparation. *Sci. Tech. Bull. SCIVP Vet. Med. Prod. Feed Add.* 2019; 20 (1): 117–122. Available at: [http://www.scivp.lviv.ua/images/files/Naukovo\\_tekhnichnyy\\_byuleten/2019\\_20\\_1/20.pdf](http://www.scivp.lviv.ua/images/files/Naukovo_tekhnichnyy_byuleten/2019_20_1/20.pdf) (in Ukrainian)
- Denysenko O. Oxidative modification of proteins as a factor in the pathogenesis of allergodermatoses. *Ukr. J. Dermatol. Venerol. Cosmetol.* 2004; 1 (12): 23–26. (in Ukrainian)
- Dubinina E, Salnikov L, Efimova L. Activity and isoenzyme spectrum of superoxide dismutase of erythrocytes and human blood plasma. *Lab. Sci.* 1983; 10: 30–33. (in Russian)
- Karimov I. Oxidative modification of proteins and lipid peroxidation in the development of metabolic intoxication in pathology. *Lab. Diagnost.* 2005; 1 (31): 7–13. (in Ukrainian)
- Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Method. Enzymol.* 1990; 186: 464–478. DOI: 10.1016/0076-6879(90)86141-H.
- Meshchishen I, Poliovyi V. Mechanism of oxidative modification of proteins. *Bukovinian Med. Herald.* 1999; 3 (1): 196–205. (in Ukrainian)
- Milk and dairy products — Methods of microbiological control. DSTU 7357:2013. National standard of Ukraine. Kyiv, 2014. (in Ukrainian)
- Murska S. Modern scientific approach for quality assurance and milk products without develop safe antibiotics to treat mastitis cows patients. *Sci. Bull. LNUVMBT S. Z. Gzhytsky. Series Vet. Sci.* 2016; 18 (65): 205–220. Available at: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/74> (in Ukrainian)
- Panevnyk V, Suprovych T. Etiological factors mastitis cows Ukrainian black-pied dairy breed. *Sci. Bull. the LNUVMBT S. Z. Gzhytsky. Series Vet. Sci.* 2016; 18 (70): 191–195. DOI: 10.15421/nvlvet7046. (in Ukrainian)
- Poppek D, Grune T. Proteasomal defense of oxidative protein modifications. *Antiox. Redox Signaling.* 2006; 8 (1–2): 173–184. DOI: 10.1089/ars.2006.8.173.
- Riabov G, Azizov Y, Dorokhov S. Oxidative modification of blood plasma proteins of patients in critical conditions. *Anesthesiol. Resuscitation.* 2000; 2: 72–75. (in Russian)
- Sobko G, Broda O, Vishchur O, Kurtyak B. Influence of “Antymast” on the system of antioxidant defense of cows with subclinical form of mastitis. *Sci. Bull. the LNUVMBT S. Z. Gzhytsky. Series Vet. Sci.* 2016; 18 (65): 158–163. Available at: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/64> (in Ukrainian)
- Stadtman E. Role of oxidized amino acids in protein breakdown and stability. *Method. Enzymol.* 1995; 258: 379–393. DOI: 10.1016/0076-6879(95)58057-3.
- Tiana L, Caib Q, Wei H. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Rad. Biol. Med.* 1998; 24 (9): 1477–1484. DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00025-2.

## Вплив ліпосомального препарату на інтенсивність процесів окисної модифікації протеїнів за субклінічного маститу корів

В. А. Чепурна<sup>1</sup>, Т. М. Супрович<sup>1</sup>, О. І. Віщур<sup>2</sup>, В. П. Мізук<sup>1</sup>, І. Є. Соловодзінська<sup>3</sup>  
valentinachepurna70@gmail.com

<sup>1</sup>Подільський державний аграрно-технічний університет,  
вул. Шевченка, 13, м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька обл., 32316, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології тварин НААН,  
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

<sup>3</sup>Львівський національний аграрний університет,  
вул. Володимира Великого, 1, м. Дубляни, Жовківський р-н, Львівська обл., 80381, Україна

Наведені результати експериментальних досліджень впливу ліпосомального препарату, виготовленого на основі рослинної сировини, звіробою подрібненого (*Hypericum perforatum* L.), на інтенсивність процесів окисної модифікації протеїнів (ОМП) у крові та молоці корів, хворих на субклінічну форму маститу. Дослідження показали, що у корів з ознаками субклінічної форми маститу в сироватці крові констатовано підвищення вмісту альдегідопохідних ОМП<sub>370</sub> і кетоніпохідних ОМП<sub>430</sub> — відповідно, в 1,3 і 1,2 раза щодо аналогічних показників у здорових тварин. При цьому у молоці хворих корів вміст похідних ОМП<sub>370</sub> та ОМП<sub>430</sub> був в 1,99 і 2,29 раза більший, ніж у тварин контрольної групи. На початку дослідження у молоці хворих корів зафіксовано вірогідно низьке значення показника активності ензимної ланки антиоксидантного захисту — супероксиддисмутази. Водночас констатовано збільшення у 2,6 раза ( $P < 0,001$ ) кількості соматичних клітин порівняно з їх кількістю у молоці клінічно здорових корів. Інтрацистернальне введення коровам ліпосомального препарату спричиняло зниження інтенсивності окисних процесів. У крові хворих корів вміст альдегідних похідних ОМП<sub>370</sub> на 9-ту добу експерименту був на 23,1% ( $P < 0,05$ ) менший, ніж до початку введення препарату; в молоці вміст ОМП<sub>370</sub> зменшився на 61,8% ( $P < 0,01$ ). Аналогічні зміни констатовано щодо рівня кетоніових похідних. Зокрема, на 9-ту добу експерименту вміст ОМП<sub>430</sub> знизився на 11,7% ( $P < 0,05$ ) порівняно з його значенням у крові хворих тварин до введення досліджуваного препарату, а в молоці став меншим на 64,2% ( $P < 0,01$ ). За проведеного лікування на 9-ту добу експерименту кількість соматичних клітин у молоці знизилась на 41,8% відносно початку дослідження ( $P < 0,01$ ). У процесі лікування на 3- і 9-ту доби виявлено тенденцію до підвищення супероксиддисмутазної активності у молоці хворих корів порівняно з показниками на початку дослідження. Отже, інтрацистернальне введення ліпосомального препарату коровам, хворим на субклінічну форму маститу, призводить до зниження альдегідних та кетоніових похідних окисної модифікації протеїнів у сироватці крові та молоці. При цьому зафіксовано підвищення активності ензимної ланки антиоксидантного захисту та зниження кількості соматичних клітин у молоці корів.

**Ключові слова:** корови, субклінічний мастит, соматичні клітини, окисна модифікація протеїнів, ліпосомальний препарат



## Innovative technology of obtaining organic marble beef

V. S. Kozyr

izkzoo3337@gmail.com

State Institution "The Institute of Grain Crops NAAS",  
14 V. Vernadsky str., Dnipro, 49009, Ukraine

The aim was to develop an innovative technology for obtaining high-quality organic marble beef. In the experimental farm "Polyvaniivka" of the Institute of Grain Crops NAAS the cultivation of bulls of the gray Ukrainian breed up to 30 months of age has been organized using fodder which is traditional for steppe zone of Ukraine. The work has been performed according to the research program of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine no. 37 "System of work in populations and conservation of biological diversity of genetic resources of farm animals" ("Preservation of breed gene pool"). The expediency of organic production of high-quality marble beef obtained in the steppe zone of Ukraine from gray Ukrainian cattle has been proven. This breed has such economically useful features as the duration of production use, longevity, high growth energy (stable average daily gain over 1 kg), and the conversion of diet into products (feed consumption is 70–80 MJ per 1 kg of growth) correlating with the age of the animal, slaughter rates (>60%, meat content is >4 kg per 1 kg of bones, hard skin is >30 kg which belongs to the category of bull production). We have found that it is necessary to determine the cattle fatness not by subcutaneous fat which has no dietary value, but by the beef marbling as a sign of its quality which takes into account the presence of intramuscular and intermuscular fat including unsaturated fatty acids, vitamins A and D, as well as the amount of protein and moisture and taste and culinary features of the carcass flesh, such as tenderness, juiciness and aroma. This meets the requirements of the consumer. The proposals based on the results of research on technological changes in animal husbandry promote the development of meat cattle breeding and are of great economic importance for strengthening the health of the population and food safety in Ukraine.

**Key words:** breed, bulls, age, growth energy, live weight, slaughter rates, beef, organic products, muscle, adipose tissue, marble meat, quality

Beef always was and will be one of the staple foods for humans. The medical norm of beef consumption is 31 kg per year. In Ukraine it was actually consumed less than 10 kg in 2020 [8]. In order to increase livestock productivity and make a large profit, most livestock enterprises introduce intensive production technologies using growth stimulants and even interfere in the animal genome. Such beef does not bring the expected benefits to the consumer who wants it to be environmentally friendly, tender, fragrant, juicy.

Therefore, scientists have developed an alternative concept and proposed the term "organic products", the main feature of which is the valuable biological quality and health properties obtained in the absence of chemicals and veterinary drugs [1]. In recent years, the standard of organic animal husbandry has been spreading around the world, based on closed agricultural systems and minimal use of energy sources.

In Ukraine such production also doubles every year, both in terms of production and the number of enterprises that conduct and certify the industry as organic. This is facilitated by the demand for such products both in the domestic market and for export. In accordance with the Program of Harmonious Development of the country in the XXI century, the initiative group "Agro-Organic Club" has developed a project of environmentally friendly and competitive agriculture, which maintains the balance of the environment and clean food.

The resolutions of the Council of the European Union set out the principles of organic animal husbandry, which provides for loose housing with maximum access to pastures, low livestock load per unit area, taking into account its ethological features, creating comfortable conditions for growing (microclimate, litter), concentrated feed in the diet for nutrition should not exceed 40% and it is allowed to use vitamin and mineral supplements



(premises) only when the need for them can not be met by natural feeds and pastures (the use of artificial amino acids, hormonal drugs, stimulants, extracted components of feed and antibiotics is generally prohibited).

Many farmers in France, Canada, Switzerland, the United States and other countries raise livestock in accordance with these requirements [4]. Of course, the implementation of these principles leads to some increase in production costs. In some agricultural enterprises in Germany, Great Britain, Austria, Poland, the cost of such beef has increased [6].

However, the demand for it increases every year and economic efficiency increases due to higher sales prices. Despite the higher costs, organic livestock production in Ukraine is also becoming especially relevant because a large share of beef, unfortunately, comes to the market from dairy cattle which is not the highest quality [11]. At the domestic legislative level, the Ukrainian Parliament has adopted a relevant law that defines the legal, economic, social and organizational framework for organic agriculture (including livestock) for the receipt, processing, certification, transportation, storage and sale of products and raw materials, aimed at protecting public health and the environment [7, 9]. Today there are already agricultural formations in Dnipropetrovsk, Kyiv, Poltava and other regions of Ukraine where these requirements are met. But the prices have not yet been settled.

## Materials and Methods

In order to confirm this, we organized the cultivation of gray Ukrainian breed bulls ( $n=15$ ) up to 30 months in the experimental farm "Polyvanivka" of the Institute of Grain Crops NAAS in compliance with the requirements of organic production. Slaughter of animals was carried out at one and a half-, two- and 2.5 years of age for 5 heads. Zootechnical, statistical, biometric research methods were used.

## Results and Discussions

Particular attention was paid to the amount and topography of fat because age-related deviations in the presence of moisture, protein and dry matter in the carcasses were natural. The meat ratio (the ratio of pulp mass to bone mass) ranged from 5.1 at 18 months of age to 4.8 at 30 months of age.

The quality of the pulp was determined by its fat, protein and moisture content. The process of fat deposition in the body of cattle occurred simultaneously and unevenly throughout the body of the animal. Intramuscular fat, which contains unsaturated fatty acids, vitamins A and D, provides the greatest nutritional, dietary value and marbling. They give beef tenderness, juiciness, aroma and good culinary and technological qualities.

Marble beef is valued for nitrogenous extractives, biotin, pantothenic acid, essential amino acids which increase the secretory function of the human gastrointestinal tract and improve digestibility. The content of these substances is higher than in other types of meat (including beef dairy breeds). The presence of trace elements in such meat inhibits the formation of cholesterol in the blood [12].

Beef is called marbled because of the fat between the muscle fibers so the muscles resemble a pattern of marble with light layers. The degree of marbling is determined by cutting the longest muscle of the back in the carcass between 12 and 13 ribs: the more intramuscular fat there is, the higher is the marbling. The following categories of marbling are accepted in the world in ascending order: select, choice, prime. Each of them also has ascending subcategories "A" and "B", in which the marbling is determined from 1 to 5 points (the highest quality "A5" is top of the top).

All the fat in the body of cattle is successively deposited first of all under the skin, then around the kidneys, stomach, intestines, heart and only after that in the middle and between the lumbar muscles which are less "working". It has a yellowish or grayish color, melts during cooking (temperature processing) giving the meat juiciness, tenderness and aroma [3].

The cattle breed, both imported and domestic which include the gray Ukrainian, should be specialized in the direction of meat productivity. It is suitable for such economically useful features as the duration of production use, longevity, high growth energy (for fattening up to 1200g/day), proportionality of the physique, the harmony of muscle development (uniformity index 0.74), at 30 months of age bulls reach live weight up to 700 kg, amino acid value of protein in beef.

Livestock technology plays an important role in the production of organic marble beef. More than 120 different technologies are known [10]. Each of them has its own characteristics and the right to exist. But they also have common elements. At the same time, the international scientific community is in need of developing new environmentally friendly technologies for livestock production. In this regard, in the steppe zone of Ukraine we have developed, tested and implemented low-cost ethologically-based organic technology for raising cattle for meat. Its significance lies in the fact that throughout the spring-summer-autumn period (from March to November) the animals are kept free of charge 24 hours a day without feeding with compound feeds on a large fenced area (2 hectares of natural pastures per 1 animal) without shepherds. The use of any premises, equipment (fuels and lubricants), electricity is excluded.

At the same time, labor costs per 1 quintal of growth are 3–4 people/hour, which is 10 times less than the average in the Dnipropetrovsk region. Animals up to 8 months were raised on suckling with their mothers, then on free grazing to a live weight of 300–350 kg, and then transferred to a feeding area or on a leash (or in

a separate machine) to limit movement, which leads to loss growth (including intramuscular fat). At this time, more carbohydrates (corn, barley, special feeds) were added to the feeding rations including biologically active and aromatic substances [5].

Naturally, the rate of fat synthesis in cattle with age gradually outpaced muscle tissue, its total amount in the body increased, including intra- and intermuscular. Its mass in the flesh of the carcass also increased, which was a characteristics of the beef marbling (table).

**Table.** Marbling of meat of gray Ukrainian breed bulls

Indicator	Age, months		
	18	24	30
Number of animals, n	15	10	5
Carcass weight, kg	323.5±3.83	359.6±5.61	380.0±9.14
Mass of pulp in the carcass, kg	270.8±2.94	296.2±4.73	314.6±8.71
Proportion of pulp in the carcass, %	83.71	83.09	82.80
Mass of fat in the carcass, kg	33.6±1.40	41.7±1.72	49.0±1.61
Proportion of fat in the carcass, %	10.4±1.11	11.6±1.30	12.9±1.41
Mass of internal muscle fat, kg	18.8±1.40	22.7±1.72	27.0±1.64
Proportion of internal muscle fat: in the carcasses, %	5.8±1.08	6.3±1.21	7.1±1.30
in the pulp, %	6.9±1.60	7.7±1.70	8.6±2.11
Caloric content of 1 kg of pulp, MJ	9.0±0.81	9.8±0.90	14.0±1.32
Pulp acidity, pH	6.5±0.10	6.0±0.10	5.9±0.10
Pulp tenderness, %	0.48±0.02	0.43±0.02	0.40±0.01
Pulp boiling, %	35.7±1.80	33.6±1.61	31.8±1.70

But the proportion of the most valuable flesh in the carcass remained almost stable (2.5%) for 2.5 year of the bull's life, and the mass of intramuscular fat accumulated and was heavier than all the fat in the carcass. Marbling and caloric content of beef correlate with the age of the animals. Compared to 18 months of age, the total amount of fat increased by 22%, and in the flesh by 1.5 times.

The coefficient of marbling of beef (the ratio of the mass of intramuscular fat to the mass of flesh) also increased more intensively, and this attracts the consumer even with increasing its caloric content because the juiciness, aroma and tenderness of meat remain optimal without changes and culinary qualities (boiling) are improving. Normal acidity indicates the possibility of long-term storage.

It has been proven that it is better to raise bulls than heifers. They differ in the physical and biochemical structure of all tissues and the energy of growth — in the body of bulls less moisture and more dry matter; as a result, the meat is more complete. They have higher viability. It is advisable to slaughter them at the age of 2–2.5 years. The slaughter yield is 60% or more, and the ratio of total fat to protein — 1.5–2.0 that is liked by the consumer.

Veal meat of bulls up to one year old has almost no intramuscular fat layers and cannot be marbled. This is due to the fact that in a young body the synthesis of muscle tissue (protein) precedes the synthesis of adipose tissue, and with age, on the contrary, the synthesis of adipose tissue gradually outstrips muscle growth and, thus, the salting of the carcass. Veal is a dietary product that is especially useful for children and people with impaired gastrointestinal tract.

Marble meat matures better in bran and lasts at least two weeks at  $t 0...+2^{\circ}\text{C}$  under the action of biochemical processes. Fermentation destroys the fibers, the meat becomes tender and closer to the “reference protein”, the composition of which is proposed by the FAO/WHO balanced in amino acid composition.

In international practice, two systems of evaluation of marble meat have been acquired: American (BMS — 12-point standard) and Japanese (5-point scale). The Australian beef rating system is based on similar principles but defines only three categories — from 3 to 5 stars. European scientists, including Ukrainian, conduct research to determine the limit parameters of the composition of organic marble beef [2].

In Ukraine, more than 100 farms operate on the principles of organic production in Dnipropetrovsk, Zaporizhia, Donetsk, Kirovohrad and other regions, who understand that maintaining the existing high fertility of arable land is possible only through organic and not chemical fertilizers. The obtained products become a special national feature of our state among the countries of the international community.

Organic livestock is more natural for animals. High concentrations of livestock in limited areas and unbalanced feeding reduce the resistance and productivity of animals and product quality, which has a negative impact on the economic efficiency of the industry. Therefore, technological changes in beef production are very urgent.

## Conclusions

1. Gray Ukrainian breed with observance of the corresponding technology gives organic marble beef.
2. Different specific gravity of intramuscular fat of carcass flesh allows to classify beef by marbling. Determining the fattening of cattle for irrigation does not meet consumer demand and needs to be clarified in the direction of determining the amount of intramuscular fat.
3. The introduction of the marbling coefficient will help accelerate the development of beef cattle breed-

ing and more fully meet the needs of the population in high-quality organic beef, which is very important in creating food security of the state.

### Prospects for further research

Further work will be aimed at conducting research on fattening and meat qualities, as well as physico-chemical properties and chemical composition of muscle tissue of young cattle of the Ukrainian gray breed, taking into account their belonging to different genealogical lines. This is an important aspect of changing the technology of keeping and feeding animals in the direction of meat productivity, as well as the choice of direction for further breeding work.

1. Antonenko G, Hrebel L. Calf breeding technologies. *Agribusiness Today*. 2011; 7: 36–39. (in Ukrainian)
2. Artemova O. Humanism as a component of the quality of livestock products. Kyiv, Mega-Poligraf, 2007: 1–3. (in Ukrainian)
3. Gotsiridze N., Tortladze L. Determination of the biological value of beef. *Zootchnics*. 2001; 8: 31–32. (in Russian)
4. Honcharenko I. Meat cattle breeding of the leading countries of Europe. *Livestock Ukraine*. 1997; 4: 30 p. (in Ukrainian)
5. Law of Ukraine no. 2496-VIII from 10.08.2018. On main principles and requirements to organic production, its circulation and marking. With changes made in accordance with the Law no. 2740-VIII from 06.06.2019. Kyiv, 2018. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2496-19#Text> (in Ukrainian)
6. Legoshin GP. Comprehensive assessment of meat productivity, quality of carcasses and meat of young cattle. *Animal Science*. 2009; 9: 30–32. (in Russian)
7. Medvedev AY, Lynnyk VS. *Theoretical and practical substantiation of energy-saving technology of beef production with year-round use of canned feed*. Lugansk, Elton, 2011: 222 p. (in Ukrainian)
8. Melnyk YV. *Formation of meat productivity in animals of different breeds of cattle bred in Ukraine*. Korsun-Shevchenkivsky, 2010: 400 p. (in Ukrainian)
9. Mykhalchenko S. Conversion of nutrients into meat productivity. *Livestock Ukraine*. 2011; 7: 31–33. (in Ukrainian)
10. Oliynyk S. Output of food protein from bulls under the different growing technologies. *Collection Sci. Works Vinnytsia Nat. Agr. Univer. Agricult. Sci.* 2010; 5 (45): 204–207. Available at: <http://agrojournal.vsau.org/files/pdfa/1222.pdf> (in Ukrainian)
11. Organic Standard. A certification company. Available at: <https://organicstandard.ua> (in Ukrainian)
12. Ukrainian beef market. *Effective Animal Husbandry*. 2008; 3 (27): 6–7. (in Ukrainian)

### Інноваційна технологія одержання органічної мрамурової яловичини

B. C. Kozyr

izkzoo3337@gmail.com

Державна установа «Інститут зернових культур НААН»,  
вул. В. Вернадського, 14, м. Дніпро, 49009, Україна

Мета — розробити інноваційну технологію одержання високоякісної органічної мрамурової яловичини. У дослідному господарстві «Поливанівка» Інституту зернових культур НААН організували вирощування бугайців сірої української породи великої рогатої худоби до 30-місячного віку з використанням традиційних кормів степової зони України. При цьому використовували зоотехнічні, статистичні, біометричні методи досліджень. Роботу виконано згідно з програмою наукових досліджень Національної академії аграрних наук України № 37 «Система роботи в популяціях і збереження біологічного різноманіття генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин» («Збереження генофонду порід»). Доведено доцільність органічного виробництва високоякісної мрамурової яловичини, одержаної в умовах степової зони України від сірої української худоби, яка має такі господарсько корисні ознаки, як тривалість виробничого використання (десять і більше отелень), довгорослість (понад п'ять років), високі енергію росту (стабільні середньодобові прирости живої маси понад 1 кг) та конверсію раціону в продукцію (витрати кормів — 70–80 МДж на 1 кг приросту), корелюючи з віком тварин, забійні показники (понад 60%, коефіцієнт м'ясності понад 4 кг на 1 кг кісток, важкі шкіри — понад 30 кг, які належать до категорії «бичина»). Доведено необхідність визначення вгодованості великої рогатої худоби не за підшкірним жиром (поливом), який не має харчової цінності, а за мрамуровістю яловичини як ознаки якості, яка враховує наявність внутрішньом'язового і міжм'язового жиру, до складу якого входять ненасичені жирні кислоти, вітаміни А і D, а також кількість білка і вологи, та смакові і кулінарні особливості м'якоті туші — ніжність, соковитість і аромат. Це відповідає вимогам споживача. Пропозиції, сформульовані на підставі одержаних результатів досліджень, за технологічними змінами вирощування тварин сприяють розвитку м'ясного скотарства і мають велике народногосподарське значення щодо зміцнення здоров'я населення і продовольчої безпеки України.

**Ключові слова:** порода, бугайці, вік, енергія росту, жива маса, забійні показники, яловичина, органічна продукція, м'язова, жирова тканини, мрамуровість, якість





## Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз та відтворювальна здатність кнурів-плідників за впливу цитрату міді

А. С. Сябро

siabro.aliona@gmail.com

Полтавська державна аграрна академія,  
вул. Сковороди, 1/3, м. Полтава, 36003, Україна

Процеси пероксидного окиснення відіграють провідну роль у забезпеченні рухливості, виживаності та запліднювальної здатності спермій. При цьому особлива роль належить лімітуючим антиоксидантам — вітамінам, амінокислотам, мікроелементам. Тому розроблення програм нормованої годівлі для забезпечення антиоксидантного живлення є одним з ефективних методів репродуктивної біотехнології. Метою досліджень було встановити вплив цитрату міді на якість спермопродукції та формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі кнурів-плідників. В досліді використані дорослі кнури великої білої породи, аналоги за віком, живою масою та якістю спермопродукції. Дослідним групам згодовували цитрат міді понад норму на 10% та 20% відповідно. Встановлено, що згодовування кормбікорму кнурам-плідникам з додаванням цієї сполуки в кількості 10% понад норму вірогідно збільшує масу еякуляту на 12,5% ( $P < 0,05$ ), підвищує рухливість та виживаність спермій на 6,5% ( $P < 0,01$ ) і 13,5% ( $P < 0,001$ ). Такі зміни у спермі відбуваються на тлі збільшення активності СОД на 80,6% ( $P < 0,05$ ), зменшення КТ на 43,5% ( $P < 0,05$ ), сповільнення процесів пероксидації — зниження дієнових кон'югатів та ТБК-активних сполук. Додаткове введення до раціону цитрату міді на 20% понад норму збільшує концентрацію спермій на 13,2% ( $P < 0,01$ ), кількість живих спермій на 20,7% ( $P < 0,01$ ) з одночасним зниженням їх виживаності, що зумовлено прискоренням процесів пероксидації — збільшенням вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук, ДАК та зниженням відновленого глутатіону. Встановлено, що запліднювальна здатність спермій істотно залежала від кількості згодовуваного мікроелементу. Після осіменіння спермою кнурів-плідників, добавка міді в раціоні яких становила 10%, свиноматки мали вищі показники заплідненості на 7,1%, багатоплідності — на 3,6% і маси гнізда при відлученні — на 8,8%. Додаткове введення цитрату міді у кількості 20% призвело до зниження запліднювальної здатності спермій: показник заплідненості свиноматок III групи був найнижчим, на 7,7% і 14,3% меншим порівняно з I та II групами. Подібну тенденцію спостерігали і за показниками великоплідності, маси гнізда при народженні та відлученні. Отже, додаткове згодовування незначної кількості міді позитивно впливає на функціональну активність спермій, процеси нормального перебігу запліднення, росту і розвитку ембріонів та новонароджених поросят за рахунок оптимізації формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

**Ключові слова:** кнури-плідники, цитрат міді, спермопродукція, пероксидне окиснення, відтворення

Збільшення виробництва свинини напряму залежить від успішності відтворення стада за рахунок правильного використання методів репродуктивної біотехнології. Широке застосування методу штучного осіменіння підвищує інтерес до отримання високоякісної спермопродукції, придатної для зберігання

та кріоконсервації. Тому раннє визначення кнурів зі зниженою фертильністю є пріоритетним завданням для програм штучного осіменіння [7, 10].

Встановлено, що протягом зберігання сперми її якість знижується, основною причиною чого є окисний стрес (пероксидне окиснення ліпідів). Велика

кількість поліненасичених жирних кислот у плазматичній мембрані спермій, а також обмежена антиоксидантна здатність пригнічувати генерування активних форм кисню (АФК) робить їх вразливими до змін прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу (ПАГ) в організмі [20].

Активність антиоксидантного захисту відіграє важливу роль у підтримці цілісності мембран, рухливості та запліднювальній здатності спермій. Тому тонкий баланс між генеруванням АФК і рівнем антиоксидантного захисту вважається важливим фактором, який визначає якість сперми кнурів-плідників і зокрема її здатність до запліднення [17]. Доведено, що природні неферментні та ферментні антиоксиданти, які зосереджені переважно у спермальній плазмі, здатні захищати гамети від дії вільних радикалів і токсичних продуктів їх метаболізму [10].

Одним зі способів підтримання стану ПАГ є дотримання норм годівлі та забезпечення тварин поживними речовинами, вітамінами, макро- та мікроелементами. Зокрема, Купрум вважається важливим мікронутрієнтом. Завдяки окисно-відновному потенціалу він є кофактором понад десяти ензимів, серед яких супероксиддисмутаза (СОД) — основний антиоксидантний ензим, який запобігає коливанню радикалів Оксигену, а також бере участь у всіх етапах сперматогенезу [9]. Дефіцит або надлишок цього мікроелемента може призвести до погіршення якості спермопродукції, порушення функцій сім'яників, що, у свою чергу, знижує фертильність у самців [18].

Через низьку засвоюваність мінеральних солей, велику увагу в останні роки почали приділяти вивченню комплексного поєднання металів з біологічно активними речовинами — вітамінами, амінокислотами, органічними кислотами. Ці сполуки краще дисоціюються, акумулюються і перетворюються в метаболічно-активну форму, що дозволяє запобігти антагонізму та збільшити біодоступність мікроелементів. Заміна солей металів їхньою органічною формою (хелатні сполуки) забезпечує підвищення конверсії складових корму, зменшення їх кількості в кормах, знижує вивільнення їх до навколишнього середовища, чим запобігає забрудненню екосистеми [5].

Метою досліджень було встановити вплив цитрату міді на якість спермопродукції та формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі кнурів-плідників. Для досягнення мети виконували такі завдання: дослідити вплив цитрату міді на якість спермопродукції кнурів-плідників; з'ясувати особливості впливу цитрату міді на стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в спермі кнурів-плідників.

## Матеріали і методи

Експерименти були проведені в умовах ПрАТ «Племсервіс» і лабораторії фізіології відтворення Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН.

Для досліду було відібрано 9 кнурів-плідників великої білої породи — аналогів за віком, живою масою і якістю спермопродукції, з яких сформовано 3 групи тварин по 3 тварини в кожній: I (контрольна), II і III (дослідні). Годівлю кнурів-плідників проводили згідно з інструкцією зі штучного осіменіння свиней. Раціон тварин I групи залишався без змін, а тваринам II та III груп додатково згодовували цитрат міді у кількості 10% та 20% понад добову потребу.

Тривалість експерименту становила 105 діб, зокрема підготовчий період — 30 діб, основний — 45 діб, завершальний — 30 діб. Сперму від кнурів-плідників одержували двічі на тиждень мануальним методом. Якість спермопродукції оцінювали за масою еякуляту, концентрацією і рухливістю спермій, а також їхньою виживаністю протягом тригодинного інкубування за температури 38°C [8].

У досліджуваних зразках сперми кнурів визначали показники стану ПАГ. Для оцінки рівня перебігу пероксидного окиснення визначали концентрацію дієнових кон'югатів спектрофотометрично [16] і ТБК-активних комплексів (альдегіди і кетони) — фотоелектроколориметрично [12]. Рівень антиоксидантного захисту визначали за активністю супероксиддисмутази (СОД) фотометрично [2]; активність каталази (КТ) — за методикою М. А. Королюка з використанням ванадій-молібдатної реакції [4], вміст відновленої форми глутатіону — фотоелектроколориметрично з реактивом Елмана [16]; концентрацію аскорбінової і дегідроаскорбінової кислот (АК і ДАК) — за кількістю озонів модифікованим методом [6].

Отриманий цифровий матеріал статистично опрацьовували за допомогою програми *Statistica* для *Windows XP*. Для порівняння досліджуваних показників та міжгрупових різниць використовували *t*-критерій Ст'юдента, а результат вважали вірогідним за  $P \leq 0,05$ .

## Результати

Додаткове згодовування цитрату міді кнурам-плідникам позитивно вплинуло на якісні та кількісні показники спермопродукції (табл. 1). Встановлено, що додаткове введення мінеральної добавки в кількості 10% та 20% сприяло збільшенню маси еякуляту. Так, у кнурів-плідників II групи після завершення основного періоду маса еякуляту була вищою на 12,5% ( $P < 0,05$ ), ніж на початку досліджень. Наприкінці завершального періоду маса еякуляту кнурів, які отримували цитрат міді у кількості 20% від норми, була більшою на 12,9% ( $P < 0,05$ ) і 18,1% ( $P < 0,01$ ) порівняно з I та II групами відповідно.

Концентрація спермій в еякуляті кнурів-плідників I групи протягом досліду зменшувалась і після завершення основного періоду була на 11,4% меншою, ніж на початку. Варто зазначити, що використання мінеральної добавки сприяло збільшенню концентрації

спермій. Протягом 30 діб експерименту у тварин II та III груп показники концентрації гамет підвищувались, відповідно, на 5,7% і 13,2% ( $P<0,01$ ), та були вищими від контролю на 10,5–17,6 % ( $P<0,01$ ). Після закінчення основного періоду найвищу насиченість спермій в еякуляті спостерігали в кнурів-плідників III групи, що вище на 17,1% ( $P<0,01$ ) і 5,7% порівняно з I та II групою відповідно.

Підвищення маси еякуляту та концентрації спермій сприяло збільшенню їх загальної кількості, що дало змогу одержати більшу кількість спермодоз від одного кнура-плідника. Тварини, яким згодовували цитрат міді в кількості 20% понад норму, мали на 10,1% (основний) і 14,4% ( $P<0,05$ ) (завершальний) більшу кількість гамет в еякуляті порівняно з підготовчим періодом. Після завершення дослідів в еякуляті кнурів III групи чисельність спермій була більшою порівняно з I і II групами, відповідно, на 9,9% та 18,3% ( $P<0,05$ ).

Згодовування міді також позитивно впливало на кількість живих спермій в еякуляті. Для кнурів, які

отримували добавку в кількості 20%, було характерним підвищення активності спермій на 20,7% ( $P<0,01$ ) в основному і на 20,6% ( $P<0,01$ ) у завершальному періоді. Після закінчення дослідів тварини III групи мали більшу кількість живих спермій в еякуляті — на 13,1% і 22,1% ( $P<0,01$ ) порівняно з I і II групами.

Встановлено, що рухливість спермій суттєво залежала від наявності в раціоні добавки міді. В еякуляті кнурів-плідників II та III груп рухливість спермій була вищою, відповідно, на 5,5% ( $P<0,01$ ) і 7,8% ( $P<0,05$ ) на 30-у добу та на 6,5% ( $P<0,01$ ) і 9,7% ( $P<0,001$ ) на 45-у добу порівняно з початком дослідів. Після завершення основного періоду цей показник у тварин дослідних груп був вищим, порівняно з контролем, на 7% ( $P<0,001$ ).

Після завершення першого місяця експерименту виживаність спермій була вірогідно більшою на 12,2% ( $P<0,001$ ) та 13,8% ( $P<0,001$ ) при згодовуванні цитрату міді в кількості 10% та 20% відповідно, що вище від показників контрольної групи на 6,4% ( $P<0,01$ )

**Таблиця 1.** Вплив цитрату міді на якість спермопродукції кнурів-плідників ( $M\pm m$ )

**Table 1.** Influence of copper citrate on the quality of boars sperm production ( $M\pm m$ )

Показники Indices	Групи Groups	Період експерименту / Experiment period			
		підготовчий preparatory (n=24)	Основний / Basic		завершальний final (n=24)
			30 доба / 30 <sup>th</sup> day (n=24)	45 доба / 45 <sup>th</sup> day (n=12)	
Маса еякуляту, г Ejaculate volume, ml	I	240,96±6,80	228,42±8,81	260,50±9,58	230,71±6,57
	II	205,25±7,19	197,79±8,43	230,92±9,26*	220,46±8,06
	III	238,67±4,90	216,08±7,09	240,17±6,92	260,37±8,46*°••
Концентрація спермій, млн/см <sup>3</sup> Spermatozoa concentration, million/cm <sup>3</sup>	I	212,50±7,71	206,75±8,09	188,33±8,11	217,58±5,95
	II	229,96±7,56	243,04±7,17°°	208,70±5,24°	213,37±8,56
	III	201,67±5,11	228,37±7,54**	220,58±6,55°°°	211,46±6,34
Загальна кількість спермій в еякуляті, млрд. The total number of spermatozoa in the ejaculate, billion	I	51,34±2,54	47,91±2,96	48,57±1,99	50,21±2,04
	II	47,26±2,33	48,12±2,57	48,03±1,94	46,64±2,16
	III	48,21±1,69	49,14±2,11	53,10±2,43	55,16±2,64*•
Кількість живих спермій в еякуляті, млрд. The number of live spermatozoa in the ejaculate, billion	I	42,33±2,33	40,55±2,37	40,60±2,04	41,84±1,82
	II	39,62±2,15	42,55±2,37	42,74±1,60	38,76±1,89
	III	39,24±1,65	43,02±1,92	47,35±2,24*°	47,31±2,26**••
Рухливість спермій, % Spermatozoa mobility, %	I	82,08±1,44	84,58±1,02	83,33±1,36	83,33±0,96
	II	83,75±1,42	88,33±0,76**	89,17±0,79**	82,92±0,93
	III	81,25±1,48	87,60±0,89**	89,17±0,79***	85,83±1,01*•
Виживаність спермій, % Spermatozoa survival, %	I	64,17±1,01	65,00±1,02	62,50±1,25	63,33±0,96
	II	61,67±0,76	69,17±0,56***°°	70,00±1,18***°°°	71,25±0,67***°°°
	III	63,33±0,96	72,08±0,83***°°°	66,66±1,36°	67,08±0,92***°°

*Примітка.* Тут і в наступній таблиці: \* —  $P<0,05$ ; \*\* —  $P<0,01$ ; \*\*\* —  $P<0,001$  порівняно з підготовчим періодом; ° —  $P<0,05$ ; °° —  $P<0,01$ ; °°° —  $P<0,001$  порівняно з I групою; • —  $P<0,05$ ; •• —  $P<0,01$  порівняно з II групою; n — кількість досліджуваних зразків.

*Note.* Here and in the next table: \* —  $P<0,05$ ; \*\* —  $P<0,01$ ; \*\*\* —  $P<0,001$  compared to the initial period; ° —  $P<0,05$ ; °° —  $P<0,01$ ; °°° —  $P<0,001$  compared with the control group; • —  $P<0,05$ ; •• —  $P<0,01$  compared with II group; n — the number of test samples.

і 10,9% ( $P<0,001$ ). Наприкінці основного і завершального періодів найвищі показники виживаності встановлено в кнурів II групи, що більше на 12,0% ( $P<0,001$ ) і 12,5% ( $P<0,001$ ) відповідно порівняно з контролем.

Згодовування кнурам-плідникам цитрату міді впливало на стан ПАГ (табл. 2). Встановлено, що активність ферментів антиоксидантного захисту коливалась залежно від кількості в раціоні цього мікроелемента. У ході дослідження було виявлено збільшення активності СОД, однак спостерігали тенденцію зниження КТ. Активність СОД у спермі кнурів-плідників II групи

після закінчення основного та завершального періодів збільшувалась на 80,6% ( $P<0,05$ ) та 47,2% відповідно. Найвищий рівень СОД було відзначено у тварин III групи на 30-у добу експерименту, що було вище порівняно з I та II групами, відповідно, на 68,1% ( $P<0,01$ ) та 99,2% ( $P<0,001$ ). Рівень КТ протягом основного періоду досліду зменшувався у всіх групах тварин, однак збільшення кількості міді в раціоні понад норму на 10% призводило до вірогідного зниження цього ферменту на 45-у добу експерименту в 1,4 раза ( $P<0,05$ ), що нижче в 1,3 раза порівняно з контролем.

**Таблиця 2.** Стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі кнурів-плідників ( $M\pm m$ )

**Table 2.** State of prooxidant-antioxidant homeostasis in the sperm of boars ( $M\pm m$ )

Показники Indexes	Групи Groups	Період експерименту / Experiment period			
		підготовчий preparatory (n=24)	Основний / Basic		завершальний final (n=24)
			30 доба / 30 <sup>th</sup> day (n=24)	45 доба / 45 <sup>th</sup> day (n=12)	
Супероксидисмутаза, у.о./мл Superoxidedismutase, unit/ml	I	0,371±0,044	0,313±0,027	0,410±0,046	0,354±0,038
	II	0,284±0,039	0,264±0,029	0,513±0,083*	0,418±0,080
	III	0,444±0,046	0,526±0,053°***	0,529±0,114	0,503±0,089
Каталаза, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /хв./л Catalase, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /min/l	I	27,85±3,40	23,99±4,07	19,6±4,26	19,20±2,66
	II	25,11±3,83	23,23±3,54	14,18±2,16*	21,69±2,69
	III	22,33±3,62	24,05±3,86	15,68±2,12	21,87±2,68
Відновлений глутатіон, мкмоль/л Reduced glutathione, μmol/l	I	0,327±0,056	0,305±0,043	0,358±0,061	0,295±0,050
	II	0,337±0,074	0,266±0,029	0,281±0,042	0,268±0,041
	III	0,332±0,057	0,218±0,026	0,245±0,033	0,229±0,028
Аскорбінова кислота, мкмоль/л Ascorbic acid, μmol/l	I	8,69±1,25	10,36±1,23	8,73±0,99	10,74±0,89
	II	10,52±0,85	9,25±0,88	10,27±0,90	12,97±0,79*
	III	8,25±0,65	9,69±0,99	10,32±1,04	10,95±0,93*
Дегідроаскорбінова кислота, мкмоль/л Dehydroascorbic acid, μmol/l	I	8,86±1,12	10,28±1,00	7,20±1,03	10,26±1,11
	II	10,84±0,84	12,45±1,08	8,76±1,28	7,54±0,79**
	III	8,43±0,71	14,75±1,27***°	14,17±1,04***°°°	13,16±0,89***°°°
Бета та пре-беталіпопротеїди, мкмоль/л Beta and pre-betalipoproteins, μmol/l	I	3,05±0,32	2,84±0,21	2,68±0,33	2,95±0,26
	II	3,43±0,41	3,96±0,46	3,85±0,41	3,76±0,47
	III	3,76±0,34	4,16±0,52	3,26±0,46	2,46±0,33*
Дієнові кон'югати, мкмоль/л Diene conjugates, μmol/l	I	1,72±0,21	1,58±0,27	1,40±0,35	1,63±0,29
	II	1,73±0,23	1,94±0,33	1,53±0,26	1,35±0,24
	III	1,46±0,22	1,74±0,31	2,29±0,45	2,19±0,21***
ТБК-активні сполуки до інкубування, мкмоль/л TBA-active compounds before incubation, μmol/l	I	26,46±3,41	22,07±3,21	25,17±3,36	21,40±3,21
	II	24,42±2,24	30,05±4,07	29,80±4,04	26,91±2,66
	III	21,47±3,14	26,68±3,68	30,64±4,12*	23,33±3,50
ТБК-активні сполуки після інкубування, мкмоль/л TBA-active compounds after incubation, μmol/l	I	36,86±3,70	28,44±3,43	32,41±3,71	33,20±4,09
	II	32,25±2,91	31,42±4,05	31,75±4,02	28,24±2,72
	III	30,87±3,37	28,27±3,71	32,68±4,16	29,97±3,78

**Таблиця 3.** Відтворювальна здатність свиноматок ( $M \pm m$ )  
**Table 3.** Reproductive capacity of sows ( $M \pm m$ )

Групи Groups	Осіменено свиноматок Inseminated sows	Відтворювальні якості свиноматок / Reproductive qualities of sows					
		Заплід- неність, % Fertility, %	Кількість новонароджених поросят Number of newborn piglets		Велико- плідність, кг Large-foetus, kg	Маса гнізда при народженні, кг Litter weight at birth, kg	Маса гнізда при відлученні, кг Litter weight at weaning, kg
			Всього Total	у т.ч. живих including alive			
I	30	86,7	10,8±0,19	10,6±0,17	1,35±0,019	14,45±0,28	85,77±1,97
II	30	93,3	11,2±0,18**	11,0±0,17**	1,31±0,024	14,41±0,21 ***	94,04±2,20****
III	30	80,0	10,4±0,22	10,1±0,19	1,29±0,023°	13,03±0,24°°	75,43±1,83°°°

Примітка. \* —  $P < 0,05$ ; \*\* —  $P < 0,01$ ; \*\*\* —  $P < 0,001$  порівняно з III групою; ° —  $P < 0,05$ ; °° —  $P < 0,01$ ; °°° —  $P < 0,001$  порівняно з I групою.  
Note. \* —  $P < 0,05$ ; \*\* —  $P < 0,01$ ; \*\*\* —  $P < 0,001$  compared with III group; ° —  $P < 0,05$ ; °° —  $P < 0,01$ ; °°° —  $P < 0,001$  compared with I group.

У досліджуваних зразках сперми кнурів-плідників, які додатково отримували добавку міді в кількості 20% понад норму, спостерігали підвищення процесів пероксидації, про що свідчить збільшення первинних та вторинних продуктів пероксидного окиснення. Концентрація дієнових кон'югантів у спермі тварин III групи зростала протягом всього дослідження: наприкінці основного періоду — на 56,8%, що порівняно з I та II групами на 63,6% та 49,7% більше відповідно; наприкінці завершального періоду — на 50% ( $P < 0,05$ ), що порівняно з I та II групами більше на 34,4% і 62,2% ( $P < 0,001$ ).

У кнурів-плідників II та III груп вміст ТБК-активних сполук у секреті після завершення основного періоду був вищим, відповідно, на 22% та 42,7% ( $P < 0,05$ ), що більше на 18,4% та 21,7% порівняно з I групою. Однак після інкубування сперми у прооксидантному буфері рівень цих метаболітів у тварин контрольної групи зростав на 28,9% на 30-у добу, на 28,8% на 45-у добу і на 55,2% у завершальному періоді. У досліджуваних зразках тварин, яким згодовували добавку міді в кількості 10% та 20% понад норму, цей показник істотно не змінювався.

У спермі кнурів-плідників контрольної групи протягом експерименту вміст аскорбінової кислоти коливався. Проте у тварин, яким згодовували кормову добавку, рівень цієї кислоти після закінчення основного періоду був вищим на 17,6% (II група) і 18,2% (III група). Після завершення експерименту концентрація АК була найвищою у тварин II групи.

Встановлено вірогідне збільшення вмісту ДАК у спермі кнурів-плідників, які додатково отримували добавку міді в кількості 20%. У тварин цієї групи вміст цієї кислоти протягом експерименту збільшувався: на 74,9% ( $P < 0,001$ ) — на 30-у добу, на 68,1% ( $P < 0,001$ ) — на 45-у добу, на 56,1% ( $P < 0,001$ ) — на 75-у добу. Після закінчення основного та завершального періодів у тварин III групи цей показник був вищим, порівняно з I та II групами, у 2 рази ( $P < 0,001$ ) і 1,6 рази ( $P < 0,01$ ) та в 1,3 рази і 1,7 рази ( $P < 0,001$ ) відповідно.

Кнури-плідники, яким згодовували цитрат міді понад норму на 10% та 20%, характеризувались

більшим вмістом бета та пре-бета ліпопротеїдів у спермі. В досліджуваних зразках тварин II групи після закінчення основного та завершального періодів кількість ліпідів була більшою, порівняно з I та III групою, на 43,6% і 18,1% та 27,5% і 52,8% ( $P < 0,05$ ) відповідно. Ймовірно, на тлі збільшення вмісту ліпопротеїдів і ДАК відбулось зниження відновленого глутатіону у дослідних групах тварин. У спермі кнурів-плідників II та III груп протягом всього періоду дослідження рівень цього показника зменшувався і після закінчення завершального періоду був нижчим, відповідно, на 20,5% та 31% відносно початку.

Після закінчення основного періоду дослідів заплідненість свиноматок, яких осіменяли спермою кнурів-плідників II групи, становила 93,3%, що вище на 7,1% і 14,3% порівняно з I і III групами відповідно. Ці ж свиноматки мали більшу кількість новонароджених і живих поросят, що вище на 3,6% і 7,1% ( $P < 0,01$ ) та 3,6% і 8,2% ( $P < 0,01$ ) від показників I та III груп відповідно. Маса гнізда при народженні та відлученні у свиноматок, закріплених за кнурами II групи, була вищою, порівняно з III групою, на 9,6% ( $P < 0,001$ ) та 19,8% ( $P < 0,001$ ) відповідно.

Найнижчі показники відтворювальної здатності мали свиноматки III групи: зниження заплідненості на 7,7%, вірогідне зменшення великоплідності на 4,8% ( $P < 0,05$ ), маси гнізда при народженні — на 9,8% ( $P < 0,001$ ) і при відлученні — на 12,1% ( $P < 0,001$ ) порівняно з контролем.

## Обговорення

Отримані результати досліджень свідчать про вплив цитрату міді на функціональну активність спермій та формування ПАГ у спермі кнурів-плідників, що проявляється насамперед збільшенням кількості живих спермій в еякуляті. Очевидно, це зумовлено підвищенням рухливості гамет через посилення активності СОД та збільшенням вмісту АК [3]. При цьому високий рівень активності спермій у поєднанні з великою кількістю поліненасичених жирних кислот в їхній



мембрані призводить до підвищення процесів пероксидації, тобто збільшення вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних сполук, що проявляється зниженням виживаності спермій у тварин, яким згодовували мінеральну добавку в максимальній дозі [11,14].

У спермі кнурів-плідників, яким додатково згодовували мідь у невеликій кількості (10%), зміни стану ПАГ проявлялись незначним зниженням вмісту дієнових кон'югатів та ТБК-активних сполук, що свідчить про гальмування процесу ПОЛ. Такі зміни супроводжувало підвищення активності СОД та зниження КТ, що підтверджують дані Л. І. Колесникової [3]. Однак зі збільшенням кількості згодовуваної міді (20%) відбувається прискорення процесів пероксидації у спермі кнурів-плідників, що проявляється у підвищенні вмісту метаболітів — дієнових кон'югатів і ТБК-активних сполук та водночас інтенсивним використанням глутатіону та активацією СОД. Про близькі особливості формування ПАГ у спермі цього виду тварин після вживання великих доз мікроелемента повідомляли С. О. Усенко та В. О. Рокотянська [14, 19]. Це пов'язано з тим, що мідь у формі вільного металу є каталізатором при утворенні супероксидних та гідроксильних радикалів (реакція Габера-Вейса) [15]. Висока концентрація цього елемента призводить до незворотної іммобілізації, зниженні акросомної реакції, пошкодження ліпідів та білків клітинних мембран, деструкції ДНК, що негативно впливає на рухливість, виживаність та запліднювальну здатність спермій [1].

Встановлений позитивний вплив згодовування цього елемента на запліднювальну здатність спермій кнурів-плідників, який, очевидно, обумовлений акумулюванням міді в організмі, спричиняє комплекс біохімічних перетворень у спермі, насамперед у формуванні ПАГ. Однак істотне підвищення кількості згодовуваного мікроелемента незначно знижує їхню репродуктивну здатність, що підтверджують дані L. Roblero [13], де в основі лежить порушення взаємозв'язку спермій з ооцитами, а отже, і процесу запліднення. Саме тому чіткі норми годівлі кнурів-плідників за вмістом міді є запорукою для нормального перебігу сперматогенезу, а отже, одним із факторів впливу на їхню фертильність.

## Висновки

1. Встановлено, що додаткове згодовування кнурам-плідникам цитрату міді в кількості 10% понад норму сприяє вірогідному підвищенню маси еякуляту ( $P<0,05$ ), рухливості ( $P<0,01$ ) та виживаності спермій ( $P<0,001$ ) на 45-ту добу споживання. Такі зміни відбуваються на тлі збільшення активності СОД на 80,6% ( $P<0,05$ ) з одночасним зменшенням КТ на 43,5% ( $P<0,05$ ), зниженням дієнових кон'югатів і ТБК-активних сполук.

2. Додаткове введення до раціону цитрату міді на 20% більше від норми вірогідно підвищує кон-

центрацію спермій ( $P<0,01$ ), їхню рухливість та виживаність ( $P<0,001$ ) після 30-ї доби експерименту. Збільшення терміну згодовування цього елемента підвищує кількість живих спермій в еякуляті на 20,7% ( $P<0,01$ ), однак їхня здатність до виживання зменшується, що супроводжується інтенсифікацією процесів пероксидації.

3. Кількісні та якісні показники сперми залежать від вмісту згодовуваної добавки в раціоні. Додавання цитрату міді понад норму на 20%, порівняно з 10%, підвищує масу еякуляту на 18,1% ( $P<0,01$ ), загальну кількість спермій на 18,3% ( $P<0,05$ ), кількість живих спермій на 22,1% ( $P<0,01$ ) і їхню рухливість 3,5% ( $P<0,05$ ). Однак виживаність спермій у кнурів-плідників II групи була вищою на 6,2% ( $P<0,01$ ) від показника III групи. Встановленні відмінності зумовлені особливостями формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу: переважання активності СОД на 99,2% ( $P<0,001$ ), вмісту ДАК — на 74,5% ( $P<0,001$ ) і дієнових кон'югатів — на 62,2% ( $P<0,001$ ), що свідчить про підвищення процесів пероксидації на 45-у добу споживання у тварин, які отримували максимальний рівень міді.

4. Встановлено, що додаткове згодовування 10% органічної форми міді підвищує репродуктивні показники свиноматок: заплідненість — на 7,1%, багатоплідність — 3,6%, масу гнізда при відлученні — на 9,6%. Осіменіння спермодозами кнурів-плідників, які отримували максимальну дозу (20%) цього мікроелемента, знижує відтворювальні показники свиноматок, порівняно з I та II групою, відповідно: заплідненість — на 7,7% та 14,3%, кількість новонароджених поросят — на 3,6% і 7,1% ( $P<0,01$ ), великоплідність — на 4,4% ( $P<0,05$ ) та 1,5%, масу гнізда при народженні — на 9,8% ( $P<0,001$ ) та 9,6% ( $P<0,001$ ), при відлученні — на 12,1% ( $P<0,001$ ) та 19,8% ( $P<0,001$ ), що, вочевидь, зумовлено різними особливостями формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі.

## Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження полягають у з'ясуванні характеру впливу біологічно активних речовин природного походження на фізіологічні процеси в організмі кнурів-плідників і свиноматок, що дозволить ефективніше використовувати програми направленої живлення для покращення їхньої відтворювальної здатності.

1. Espinosa CD, Stein HH. Digestibility and metabolism of copper in diets for pigs and influence of dietary copper on growth performance, intestinal health, and overall immune status: a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2021; 12: 13. DOI: 10.1186/s40104-020-00533-3.
2. Kaydashev IP. *Handbook of Experimental and Clinical Research in Biology and Medicine*. Poltava, 1996: 123–128. (in Ukrainian)
3. Kolesnikova LI, Kurashova NA, Grebenkina LA, Dolgih MI, Vlasov BY, Neronova NA, Kirilenko EA. Superoxide dismutase and glutathione-dependent enzymes in sperm of men with chronic monotriconadal infection. *Bulletin VSNTS SB RAMS*, 2010; 6 (76): 34–36. (in Russian)

4. Korolyuk MA, Ivanova LI, Majorova IG, Tokarev EV. Method for determining the activity of catalase. *Lab. Work.* 1988; 1: 16–19. (in Russian)
5. Kosov NA. The use of chelated compounds of trace elements in pigs feeding. *Zootech. Sci. Belarus.* 2020; 368–373. (in Belarussian)
6. Kovalenko VF, Shostya AM, Usenko SO. *Method for accelerated determination of C content and its isomers in boar semen.* Patent UA no. 67054A. 15.06.2004. (in Ukrainian)
7. Martins VED, Pinto SCC, Chaves RM, Barros Filho AKD, Laskowski LM, Souza, FA. Antioxidant effect on viability of boar semen cooled to 15°C. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2020; 72 (1): 145–152. DOI: 10.1590/1678-4162-11294.
8. Melnik YF. *Instructions for Artificial Insemination of Pigs.* Kyiv, Agrarian Science. 2003. (in Ukrainian)
9. Ogórek M, Gąsior Ł, Pierzchała O, Daszkiewicz R, Lenartowicz M. Role of copper in the process of spermatogenesis. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2017; 71: 662–680. DOI: 10.5604/01.3001.0010.3846.
10. Parrilla I, Martinez, EA, Gil MA, Cuervo C, Roca J, Rodriguez-Martinez H, Martinez CA. Boar seminal plasma: current insights on its potential role for assisted reproductive technologies in swine. *Anim. Reprod.* 2020; 17 (3). DOI: 10.1590/1984-3143-ar2020-0022.
11. Podufalij VV, Cherkashina IV, Kuchkov IN. Processes of lipid peroxidation in the active-mobile fraction of human sperm isolated before and after cryopreservation. *Probl. Cryobiol.* 2008; 18 (4): 520–523. (in Russian)
12. Ribalko VP. *Modern Research Methods in Pig Breeding.* Poltava, 2005: 114–123. (in Ukrainian)
13. Roblero L, Guadarrama A, Lopez T, Zegers-Hochschild F. Effect of copper ion on the motility, viability, acrosome reaction and fertilizing capacity of human spermatozoa *in vitro.* *Reproduction, Fertility and Development.* 1996; 8 (5): 871–874. DOI: 10.1071/RD9960871.
14. Rokotyanska VO. *Features of prooxidant-antioxidant homeostasis in the semen of breeding boars with correction of vitamin and mineral nutrition.* Diss. Stepan Gzhyskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv; 2020: 159 p. (in Ukrainian)
15. Roychoudhury S, Nath S, Massanyi P, Stawarz R, Kacaniova M, Kolesarova A. Copper-induced changes in reproductive functions: *in vivo* and *in vitro* effects. *Physiol. Res.* 2016; 65: 11–22. DOI: 10.33549/physiolres.933063.
16. Shabunin SV. *Methodological provisions for the study of free radical oxidation processes in the antioxidant defense system of the body.* Voronezh, 2010: 36–37; 51–52. (in Russian)
17. Surai PF, Fisinin VI. Selenium in pig nutrition and reproduction: boars and semen quality — a review. *AJAS.* 2015; 28 (5): 730–746. DOI: 10.5713/ajas.14.0593.
18. Tvrdá E, Peer R, Sikka SC, Agarwal A. Iron and copper in male reproduction: a double-edged sword. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015; 32 (1): 3–16. DOI: 10.1007/s10815-014-0344-7.
19. Usenko SO, Shostya AM, Stoyanovskij VG, Birta GO, Kuzmenko LM, Slyenko VG. Prooxidant-antioxidant homeostasis in the incubated semen of breeding boars during feeding of lactates of microelements. *Sci. Rep. NULES of Ukraine.* 2020; 2 (84): 14 p. DOI: 10.31548/dopovid2020.02.017. (in Ukrainian)
20. Vongpralub T, Thananurak P, Sstikasamkit C, Chuawongboon P, Duangjinda M, Boonkum W, Chankitisakul V. Comparison of effects of different antioxidants supplemented to long-term extender on boar semen quality following storage at 17°C. *Thai J. Vet. Med.* 2016; 46 (1): 119–126. Available at: <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/tjvm/article/view/49791>

## Prooxidant-antioxidant homeostasis and reproductive capacity of boars under the influence of copper citrate

A. S. Siabro  
siabro.aliona@gmail.com

Poltava State Agrarian Academy,  
1/3 Skovorody str., Poltava, 36003, Ukraine

Peroxide oxidation processes play a leading role in ensuring the motility, survival and fertilizing ability of sperm. A special role is given to limiting antioxidants (vitamins, amino acids, microelements). Therefore, the development of standardized feeding programs to provide antioxidant nutrition is one of the effective methods of reproductive biotechnology. The aim of the study was to determine the effect of copper citrate on the quality of sperm production and the formation of prooxidant-antioxidant homeostasis in sperm of boars. The experiment used adult boars of a large white breed, analogs in age, live weight and quality of sperm products. Experimental groups were fed copper citrate above the norm by 10% and 20%. It has been determined that feeding combined feed to boars with the addition of this compound in an amount of 10% above norm probably increases the weight of ejaculate by 12.5% ( $P < 0.05$ ), the sperm motility and survival by 6.5% ( $P < 0.01$ ) and 13.5% ( $P < 0.001$ ), respectively. Such changes in sperm occur against the background of an increase in SOD activity by 80.6% ( $P < 0.05$ ), a decrease in catalase by 43.5% ( $P < 0.05$ ), a slowing down of peroxidation processes — a decrease in diene conjugates and TBA-active compounds. The additional introduction to the diet of copper citrate by 20% more than normal increases the concentration of spermatozoa by 13.2% ( $P < 0.01$ ), the number of live spermatozoa by 20.7% ( $P < 0.01$ ), with a simultaneous decrease in their survival, due to the acceleration of peroxidation processes — an increase in the content of diene conjugates, TBA-active compounds and DAA and a decrease in reduced glutathione. It has been found out that the fertilizing ability of sperm significantly depended on the amount of fed microelement. Sows inseminated with sperm of boars receiving copper supplement in the diet by 10%, had higher fertility rates by 7.1%, multifertility by 3.6%, and a litter weight at weaning by 8.8%. The additional administration of copper citrate reduced the fertility of sperm by 20%, as the fertility rate of sows of III group was the lowest and was 7.7% and 14.3% lower compared to I and II groups. A similar trend occurred in terms of high fertility, a litter weight at birth and weaning. Therefore, the additional feeding of a small amount of copper has a positive effect on the functional activity of sperm and the processes of normal fertilization, growth and development of embryos and newborn piglets by optimizing the formation of prooxidant-antioxidant homeostasis.

**Key words:** boars, copper citrate, sperm production, peroxide oxidation, reproduction



## Діагностичне значення інтегральних імуногематологічних індексів як маркерів хронічного стресу у курей

Ю. В. Осадча

seledat@ukr.net

Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

Вивчення стресів в умовах промислових технологій утримання курей та визначення ступеня впливу технологічних стресорів на їхній фізіологічний стан є необхідною вимогою у розробленні нових методів профілактики стресів через вибір оптимальних способів утримання птиці. Мета досліджень полягала у визначенні інформативності інтегральних імуногематологічних індексів для діагностики стрес-індукованих порушень в організмі курей за впливу технологічного стресору різної інтенсивності. Хронічний технологічний стрес був змодельований довготривалим утриманням курей за підвищеної щільності посадки. Інтенсивність дії стресора визначали за мірою підвищення щільності утримання курей. Інтегральні імуногематологічні індекси розраховували на основі розширеного загального аналізу крові. В організмі курей, які внаслідок тривалого утримання за підвищеної щільності перебували у стані хронічного стресу, виявлено високий рівень ендогенної інтоксикації і порушення імунологічної реактивності, на що вказує підвищення індексу зсуву лейкоцитів та індексу імунореактивності, а також індексів співвідношення: лейкоцитів і ШОЕ; гетерофілів і лімфоцитів; лімфоцитів і моноцитів; гетерофілів і моноцитів. За хронічного стресу у курей спостерігали активацію клітинної ланки системи імунітету, активну адаптивну реакцію білої крові, а також переважання реакцій уповільненого типу над гіперчутливістю негайного типу, на що вказують зниження лімфоцитарно-гранулоцитарного, загального, лімфоцитарного індексів та індексу співвідношення лімфоцитів і еозинофілів. Доведено, що інтегральні імуногематологічні індекси є перспективними маркерами для діагностики хронічного стресу у курей.

**Ключові слова:** імуногематологічні індекси, кури, стрес, імунологічна реактивність, ендогенна інтоксикація

В умовах зростання спеціалізації, концентрації та інтенсифікації птахівництва актуальним є вивчення впливу основних технологічних параметрів кліткового утримання на біологічні особливості курей [6]. У період адаптації до технологічних процесів організм птиці постійно зазнає впливу негативних факторів середовища утримання — стресорів, які через нервову і ендокринну системи призводять до морфологічних і функціональних змін в органах і тканинах, що супроводжується зниженням продуктивності, природної резистентності організму та зміною поведінки курей у групі [10, 34]. Тому вивчення стресів в умовах промислових технологій утримання курей і визначення ступеня впливу зовнішніх факторів на фізіологічний стан птиці є необхідною умовою розроблення нових методів профілактики стресів в умовах вибору оптимальних способів їх утримання [18].

Однак єдиного підходу до діагностики стресів у птахівництві досі не існує [3]. Усі методи мають свої переваги і недоліки, що потребує обережного вибору маркера стресу. Водночас переконливо доведена ефективність методів діагностики стресу у курей, заснованих на вивченні гормонального статусу, морфологічних показників крові, базових біохімічних констант організму і показників резистентності, та використання зазначеного підходу для визначення впливу технологічних факторів на організми птиці, а також відповідності технологічних параметрів фізіологічним потребам курей [7, 33].

Одним з непрямих методів оцінки стресового стану у птиці, який базується саме на морфологічних показниках крові, є визначення співвідношення у ній гетерофілів і лімфоцитів [17, 21, 31]. Оскільки доведено [9], що під час розвитку стресового стану



цей показник збільшується внаслідок підвищеної проліферації гемопоетичних стовбурових клітин, збільшеного вироблення гетерофілів і за рахунок абортного викиду незрілих клітин гетерофілів із кісткового мозку у кров і міграції лімфоцитів з нього у тканини. Крім того, зміни співвідношення гетерофілів і лімфоцитів корелюють з концентрацією кортикостерону у крові курей та пропорційні ступеню впливу стресорів різної природи [30, 35].

Співвідношення гетерофілів і лімфоцитів є інтегральним імуногематологічним індексом, який в гуманній медицині відомий як індекс Кребса [28]. Крім нього, в гуманній медицині використовують цілу панель імуногематологічних індексів, які непрямим чином віддзеркалюють стан імунної системи і характер перебігу запального процесу в організмі [2, 25, 26, 29].

Останнім часом маркерну панель, до якої належать індекс зсуву лейкоцитів (ІЗЛК), індекс співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів (ІСНЛ або індекс Кребса), індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ (ІЛШОЕ), лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс (ІЛГ), загальний індекс (ЗІ), індекс імунореактивності (ІІР), індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів (ІСНМ), індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів (ІСЛМ), лейкоцитарний індекс (ЛІ) та індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів (ІСЛЕ), використовують і у тваринництві [1, 13, 27, 37].

Відомо, що переушільнення як спосіб ресурсозбереження у птахівництві провокує в курей стан фрустрації, який може повторюватися кожні 1–2 год. і тривати до знесення чергового яйця. Постійне перебування курей у стані фрустрації призводить до хронічного стресу [15]. Тому мета роботи полягала у визначенні інформативності інтегральних імуногематологічних індексів як маркерів стресу в курей за впливу хронічного переушільнення.

## Матеріали і методи

В умовах сучасного комплексу з виробництва харчових яєць сформували чотири групи курей промислового стада кросу «Hy-Line W-36» (табл. 1), кожна з яких утримували в окремому пташнику-аналозу за площею (2640 м<sup>2</sup>), обладнаному 12-ярусними клітковими батареями «Salmet» (Німеччина), які склалися з 18144 кліток площею 7506 см<sup>2</sup> (120×62,55 см).

Хронічний стрес було змодельовано 33-тижневим утриманням курей, а саме від початку несучості (у 19-тижневому віці) і до 52-тижневого віку за різної щільності утримання. Згідно з вітчизняними нормами (ВНТП-АПК-04.05.), щільність утримання курей у клітках має бути в межах 22–25 гол./м<sup>2</sup> (забезпеченість площею 400–450 см<sup>2</sup>/гол.), а відповідно до вимог настанови розробника кросу (Hy-Line W-36 Final Hybrid Content Guide, 2019) — в межах 13–20 гол./м<sup>2</sup> (490–750 см<sup>2</sup>/гол.) і за забезпеченістю фронтом годівлі не менше, ніж 7,0 см/гол. Як свідчать дані

**Таблиця 1.** Схема дослідів

**Table 1.** The scheme of the experiment

Характеристика Characteristic	Група курей / Group of hens			
	1	2	3	4
Кількість птахів у клітці Number of hens in the cage	10	18	19	20
Кількість птахів у групі Number of hens in the group	181440	326592	344736	362880
Щільність посадки, гол./м <sup>2</sup> Planting density, hens/m <sup>2</sup>	13,3	24,0	25,3	26,7
Забезпеченість площею, см <sup>2</sup> /гол. Provision of area, cm <sup>2</sup> /hen	750,6	417,0	395,1	375,3
Фронт годівлі, см Front of feeding, cm	12,0	6,7	6,3	6,0

табл. 1, щільність утримання курей 1-ї групи відповідала європейським нормам і вимогам розробника кросу, 2-ї групи — вітчизняним нормам, а курей 3- та 4-ї груп утримували з наростанням переушільнення. Таким способом моделювали поступове наростання інтенсивності технологічного стресора.

Упродовж дослідів курей забезпечували питною водою, повнораціональними комбікормами однакового складу й утримували згідно з вимогами (ВНТП-АПК-04.05.). Відмінність між групами полягала лише у щільності утримання несучок, рівень якої залежав від їхньої кількості у клітках, що призводило до різної забезпеченості фронтом годівлі.

Морфологічні показники крові курей-несучок визначали на гематологічному аналізаторі *Micros 60* (Horiba Ltd.) у лабораторії «Бальд» (сертифікат №LB/02/2016). Для цього брали по 30 проб крові у несучок кожної групи у віці 52 тижні. Відбирали по 1,0–1,5 мл крові з підкрильцевої вени у пробірку з EDTA.

Для оцінки адаптаційного і загального реактивного імунологічного потенціалу курей визначали інтегральні імуногематологічні індекси: інтоксикації — індекс зсуву лейкоцитів (ІЗЛК); активності запалення — індекс співвідношення гетерофілів і лімфоцитів (ІСГЛ або індекс Кребса) або гетерофільно-лімфоцитарний коефіцієнт, індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ (ІЛШОЕ), лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс (ІЛГ), загальний індекс (ЗІ); неспецифічної реактивності — індекс імунореактивності (ІІР), індекс співвідношення гетерофілів і моноцитів (ІСГМ), індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів (ІСЛМ), лейкоцитарний індекс (ЛІ), індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів (ІСЛЕ) [14, 22, 25, 28].

Для визначення інформативності змін показників системи імунітету як можливих прогностичних чинників досліджували ступінь імунологічних порушень (СІП). За наявності імунодефіциту показник був негативним «–», знак «+» свідчив про гіперфункцію імунної системи. Значення результату в межах 1–33% тракту-

вали як I ступінь імунологічних розладів, 34–66,7% — II ступінь, понад 66,7% — III ступінь [2].

Отримані цифрові результати опрацьовували методами варіаційної статистики. Вірогідність відмінностей між середніми величинами визначали за *t*-критерієм Стьюдента, різниці вважали вірогідними за  $P < 0,05$ .

## Результати й обговорення

Виявлено, що лімфоцитарний індекс (ЛІ), лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс (ЛІГ), загальний індекс (ЗІ) та індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів (ІСЛЕ) знижувалися з підвищенням щільності утримання курей, тоді як індекс зсуву лейкоцитів (ІЗЛК), індекс імунореактивності (ІІР), індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ (ІЛШОЕ), індекс співвідношення гетерофілів і лімфоцитів (ІСГЛ), індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів (ІСЛМ) та індекс співвідношення гетерофілів і моноцитів (ІСГМ) — навпаки, підвищувались (табл. 2).

Індекс зсуву лейкоцитів (ІЗЛК), який характеризує співвідношення гранулоцитів та агранулоцитів і не залежить від кількості лейкоцитів у крові [26], підвищувався з посиленням дії стресору. Він виявився вищим в курей 4-ї групи — на 0,52 од. або 136,8% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, на 0,43 од. або 91,5% ( $P < 0,001$ ) і 0,38 од. або 73,1% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 2- та 3-ю групами відповідно. Водночас у курей 2-ї групи ІЗЛК був вищим на 0,09 од. або 23,7% ( $P < 0,001$ ), а у курей 3-ї групи — на 0,14 од. або 36,8% порівняно з 1-ю групою. Різниця ІЗЛК між 2- та 3-ю групами становила лише 0,05 од. або 10,6% і статистично не підтвердилась. Підвищення ІЗЛК з посиленням інтенсивності дії стресора вказує на зсув лейкоцитарної формули вліво, що свідчить про порушення імунологічної реактивності [36] і надходження до периферійної крові великої кількості «молодих» форм лейкоцитів [26].

Індекс співвідношення гетерофілів та лімфоцитів (ІСГЛ або індекс Кребса), який класично є маркером стресу [13, 21] та відображає співвідношення клітин

**Таблиця 2.** Інтегральні імуногематологічні індекси курей  
**Table 2.** Integral immunohematological indices of hens

Індекс, од. / Index, un.	Група курей / Group of hens			
	1	2	3	4
Індекси інтоксикації / Intoxication index				
Індекс зсуву лейкоцитів Leukocyte shift index	0,38±0,006	0,47±0,015***	0,52±0,029***	0,90±0,097*****
Індекси активності запалення / Inflammatory activity index				
Індекс співвідношення гетерофілів і лімфоцитів (Індекс Кребса) Heterophil to lymphocyte ratio (Krebs index)	0,35±0,013	0,39±0,002**	0,43±0,033*	0,76±0,078*****
Лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс Lymphocyte-granulocyte index	17,73±0,433	16,34±0,164**	16,14±0,633*	11,89±0,931*****
Індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ Leukocyte to erythrocyte sedimentation rate ratio	0,35±0,009	0,80±0,005***	0,86±0,004*****	0,93±0,011*****
Загальний індекс General index	18,08±0,438	17,14±0,108*	17,49±0,993	12,82±0,878*****
Індекси неспецифічної реактивності / Indices of nonspecific reactivity				
Індекс імунореактивності Immunoreactivity index	7,92±0,271	10,78±0,102***	13,19±0,325*****	15,75±0,813*****
Індекс співвідношення гетерофілів і моноцитів Heterophil to monocyte ratio	2,61±0,039	3,90±0,067***	5,42±0,534*****	18,48±0,973*****
Індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів Lymphocyte to monocyte ratio	7,62±0,254	10,03±0,132***	12,20±0,400*****	20,65±1,873*****
Лімфоцитарний індекс Lymphocytic index	2,96±0,131	2,57±0,013***	2,25±0,118*****	1,65±0,143*****
Індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів Lymphocyte to eosinophil ratio	21,08±0,207	14,30±0,974***	14,84±1,504***	11,08±0,973****

*Примітка.* \* —  $P < 0,05$ , \*\* —  $P < 0,01$ , \*\*\* —  $P < 0,001$  — порівняно з 1-ю групою; ° —  $P < 0,05$ , °° —  $P < 0,01$ , °°° —  $P < 0,001$  — порівняно з 2-ю групою; ' —  $P < 0,05$ , ' ' —  $P < 0,01$ , ' ' ' —  $P < 0,001$  — порівняно з 3-ю групою.

*Note.* \* —  $P < 0,05$ , \*\* —  $P < 0,01$ , \*\*\* —  $P < 0,001$  — compared with the 1<sup>st</sup> group; ° —  $P < 0,05$ , °° —  $P < 0,01$ , °°° —  $P < 0,001$  — compared with the 2<sup>nd</sup> group; ' —  $P < 0,05$ , ' ' —  $P < 0,01$ , ' ' ' —  $P < 0,001$  — compared with the 3<sup>rd</sup> group.

специфічного і неспецифічного імунітету [20], підвищувався з посиленням дії стресора. Найвищий ІСГЛ виявлений у курей 4-ї групи — на 0,41 од. або 117,1% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, на 0,37 од. або 94,9% ( $P < 0,001$ ) і 0,33 од. або 76,7% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 2- та 3-ю групами відповідно. У курей 2-ї групи ІСГЛ був вищим на 0,04 од. або 11,4% ( $P < 0,01$ ), а у курей 3-ї групи — на 0,08 од. або 22,9% ( $P < 0,05$ ) порівняно з 1-ї групою. Різниця між 2- та 3-ю групами становила лише 0,04 од. або 10,3% і статистично не підтвердилась. ІСГЛ характеризує активність фагоцитарних реакцій і факторів специфічного імунітету, а також їхню участь у підтримці загальної реактивності організму [26], тому його підвищення з посиленням дії стресора свідчить про перевагу неспецифічних захисних клітин, що відбувається внаслідок функціонального підвищення проліферативної активності кісткового мозку і виражається у збільшенні кількості гетерофілів [8].

Лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс (ІЛГ), який дозволяє диференціювати автоінтоксикацію, викликану порушенням роботи імунної або ферментативної системи, та інфекційну інтоксикацію, а також виражає в числах ступінь зсуву лейкоцитарної формули крові [12, 14], знижувався з посиленням дії стресора. Найнижчий ІЛГ виявлено у курей 4-ї групи — на 5,84 од. або 49,1% ( $P < 0,001$ ), 4,45 од. або 37,4% ( $P < 0,001$ ) та 4,74 од. або 39,9% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-, 2-ю та 3-ю групами відповідно. У курей 2-ї та 3-ї груп ІЛГ був нижчим на 1,39 од. або 8,5% ( $P < 0,001$ ) та 1,59 од. або 9,9% ( $P < 0,05$ ), ніж у 1-й групі. Різниця між 2-ю та 3-ю групами статистично не підтвердилась. Зниження ІЛГ свідчить про зсув лейкоцитарної формули вліво та підтверджує наявність автоімунної інтоксикації [12, 23, 29]. Зниження ІЛГ також можна розглядати як порушення чинників і механізмів імунологічної реактивності [16]. Одночасне підвищення ІЗЛК та зниження ІЛГ свідчить про розвиток ендогенної інтоксикації і порушення імунологічної реактивності внаслідок автоінтоксикації організму під час деструкції власних клітин [22].

Індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ (ІЛШОЕ), зміни якого свідчать про наявність інтоксикації, пов'язаної з інфекційним (зменшення ІЛШОЕ) або автоімунним (збільшення ІЛШОЕ) процесом [19], підвищувався з посиленням дії стресора. Найвищий ІЛШОЕ спостерігали в курей 4-ї групи — на 0,58 од. або 165,7% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою та на 0,13 од. або 16,3% ( $P < 0,001$ ) і 0,07 од. або 8,1% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 2- та 3-ю групами відповідно. Водночас ІЛШОЕ у курей 2-ї групи був вищим на 0,45 од. або 128,6% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, а в курей 3-ї групи — на 0,51 од. або 145,7% ( $P < 0,001$ ) і 0,06 од. або 7,5% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю та 2-ю групами відповідно. Підвищення ІЛШОЕ з посиленням дії стресора вказує на наявність в організмі курей вираженої системної запальної відповіді з високим рівнем ендогенної інтоксикації і порушен-

ням імунологічної реактивності [29], а також підтверджує автоімунний характер патологічного процесу [2, 22, 28, 38].

Загальний індекс (ЗІ), який є сумою лімфоцитарно-гранулоцитарного (ІЛГ) і співвідношення лейкоцитів і ШОЕ (ІЛШОЕ) індексів та дозволяє розрізнити характер інтоксикації на ранніх стадіях розвитку патологічного процесу [22], знижувався з підвищенням сили впливу стресора. Найнижчий ЗІ виявлено в курей 4-ї групи — на 5,26 од. або 41,0% ( $P < 0,001$ ), ніж у курей 1-ї групи, на 4,32 од. або 35,2% ( $P < 0,001$ ) і на 4,67 од. або 36,4% ( $P < 0,001$ ) — ніж у курей 2-ї та 3-ї груп відповідно. Варто зазначити, що різниця ЗІ між 1-ю та 2-ю групами становила лише 0,94 од. або 5,5% ( $P < 0,05$ ), а між відмінностей між 1-ю та 3-ю, а також 2-ю та 3-ю групами не виявлено. Зниження ЗІ свідчить про наявність в організмі курей інтоксикаційного процесу [27].

Індекс імунореактивності (ІІР), який відображає стан основних клітин-продуцентів цитокінів та дисбаланс у цитокіновому профілі [32], підвищувався з посиленням дії стрес-фактора. Найвищий ІІР спостерігали у курей 4-ї групи — на 7,83 од. або 98,9% ( $P < 0,001$ ), ніж в курей 1-ї групи, на 4,97 од. або 46,1% ( $P < 0,001$ ) і на 2,56 од. або 19,4% ( $P < 0,01$ ) — ніж в курей 2- та 3-ї груп відповідно. Водночас у курей 2-ї групи ІІР був вищим на 2,86 од. або 36,1% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, а у курей 3-ї групи — на 5,27 од. або 66,5% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою та на 2,41 од. або 47,3% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 2-ю групою. Підвищення ІІР з посиленням дії стресору свідчить у курей 3-ї і 4-ї груп про декомпенсацію, а в курей 2-ї групи — про субкомпенсацію ендогенної інтоксикації [11].

Індекс співвідношення гетерофілів і моноцитів (ІСГМ), який свідчить про співвідношення компонентів мікрофагально-макрофагальної системи [29], підвищувався з посиленням дії стрес-фактора. Найвищий ІСГМ спостерігали в курей 4-ї групи — на 15,87 од. або 608,0% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, на 14,58 од. або 373,8% ( $P < 0,001$ ) і 13,06 од. або 241,0% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 2-ю та 3-ю групами відповідно. Водночас у курей 2-ї групи характеризувались вищим ІСГМ на 1,29 од. або 49,4% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, а у курей 3-ї групи — на 2,81 од. або 107,7% ( $P < 0,001$ ) і 1,52 од. або 39,0% ( $P < 0,01$ ) порівняно з 1-ю та 2-ю групами відповідно. Підвищення ІСГМ з посиленням дії стресора вказує на підвищення активності гетерофілів у мікрофагально-макрофагальній системі імунної відповіді [24].

Індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів (ІСЛМ), який відображає взаємовідношення афекторної й ефекторної ланок імунологічного процесу [4], підвищувався з посиленням дії стрес-фактора. Найвищий ІСЛМ виявлено у курей 4-ї групи — на 13,03 од. або 171,0% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, на 10,62 од. або 105,9% ( $P < 0,001$ ) і 8,45 од. або 69,3% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 2-ю та 3-ю групами відповідно. Водночас у курей 2-ї групи ІСЛМ був

вищим на 2,68 од. або 35,2% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, а у курей 3-ї групи — на 4,58 од. або 60,1% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою та на 2,17 од. або 21,6% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 2-ю групою. Підвищення ІСЛМ свідчить про переважання ефektorної ланки імунологічного процесу над афektorною [27].

Лімфоцитарний індекс (ЛІ), який відображає взаємовідношення гуморальної та клітинної ланок імунної системи [22], знижується з посиленням дії стресора. Так, ЛІ в курей 2-ї був нижчим на 0,39 од. або 15,2% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, а в курей 3-ї групи — на 0,71 од. або 31,6% ( $P < 0,001$ ) та 0,32 од. або 14,2% ( $P < 0,01$ ) порівняно з 1- та 2-ю групами відповідно. У курей 4-ї групи ЛІ був нижчим на 1,31 од. або 79,4% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, на 0,92 од. або 55,8% ( $P < 0,001$ ) і 0,6 од. або 36,4% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 2- та 3-ю групами відповідно. Зниження ЛІ

свідчить про активацію клітинної ланки системи імунітету, а також вказує на активну адаптивну реакцію білої крові та зниження неспецифічного протиінфекційного захисту внаслідок інтоксикації [27].

Індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів (ІСЛЕ), який відображає співвідношення процесів гіперчутливості негайного і сповільненого типу [22], також знижувався з підвищенням сили впливу стресора. ІСЛЕ виявився найнижчим в курей 4-ї групи, де вплив стресора був найінтенсивнішим, — на 10,0 од. або 90,3% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою, на 3,22 од. або 29,1% ( $P < 0,05$ ) і 3,76 од. або 33,9% ( $P < 0,05$ ) порівняно з 2-ю та 3-ю групами відповідно. ІСЛЕ у курей 2-ї групи був нижчим на 6,78 од. або 47,4% ( $P < 0,001$ ), а у курей 3-ї групи — на 6,24 од. або 42,0% ( $P < 0,001$ ) порівняно з 1-ю групою. Різниця ІСЛЕ між 2-ю та 3-ю групами не спостерігали. Зниження ІСЛЕ відображає переважання реакцій уповільненого типу над гіперчутливістю негайного типу, що призводить до запуску алергічних механізмів на тлі інтоксикації [5].

Визначення інформативності змін інтегральних імуногематологічних індексів як показників системи імунітету показало, що всі вони певною мірою відображали реакцію організму курей на вплив технологічного стресора (табл. 3).

Інформативними індексами, які відреагували на ступінь інтенсивності дії стрес-фактора, виявились ІЗЛК, ІСГЛ (ІК), ІІР, ІСЛМ, ЛІ та ІСЛЕ. Серед них найчутливішими інтегральними імуногематологічними індексами, які відобразили I, II та III ступінь імунологічних порушень пропорційно до наростання інтенсивності стресора, є ІЗЛК та ІСЛМ.

## Висновки

Комплексна оцінка інтегральних імуногематологічних індексів на основі розширеного загального аналізу крові є інформативною в оцінці розвитку та ступеня тяжкості стресового стану організму курей. В курей у стані хронічного стресу спостерігали підвищення індексів ІЗЛК, ІСГЛ, ІЛШОЕ, ІІР, ІСГМ та ІСЛМ, що вказує на зсув лейкоцитарної формули вліво, перевагу неспецифічних захисних клітин, що відбувається внаслідок функціонального підвищення проліферативної активності кісткового мозку і виражається у збільшенні кількості гетерофілів, підвищенні їхньої активності у мікрофагально-макрофагальній системі імунної відповіді та свідчить про наявність в організмі курей ендогенної інтоксикації і порушення імунологічної реактивності, а також підтверджує аутоімунний характер патологічного процесу. Водночас відбувається зниження індексів ІЛГ, ЗІ, ЛІ та ІСЛЕ, що підтверджує зсув лейкоцитарної формули вліво і свідчить про активацію клітинної ланки системи імунітету, вказує на активну адаптивну реакцію білої крові та зниження неспецифічного протиінфекційного

**Таблиця 3.** Ступінь імунологічних порушень за індексами крові курей

**Table 3.** The degree of immunological disorders by blood indices of hens

Індекс, од. Index, un.	Група курей Group of hens		
	2	3	4
Індекси інтоксикації Intoxication index			
Індекс зсуву лейкоцитів Leukocyte shift index	+I	+II	+III
Індекси активності запалення Inflammatory activity index			
Індекс співвідношення гетерофілів і лімфоцитів (Індекс Кребса) Heterophil to lymphocyte ratio (Krebs index)	+I	+I	+III
Лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс Lymphocyte-granulocyte index	—I	—I	—I
Індекс співвідношення лейкоцитів і ШОЕ Leukocyte to erythrocyte sedimentation rate ratio	+III	+III	+III
Загальний індекс General index	—I	—I	—I
Індекси неспецифічної реактивності Indices of nonspecific reactivity			
Індекс імунореактивності Immunoreactivity index	+II	+II	+III
Індекс співвідношення гетерофілів і моноцитів Heterophil to monocyte ratio	+III	+III	+III
Індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів Lymphocyte to monocyte ratio	+I	+II	+III
Лімфоцитарний індекс Lymphocytic index	—I	—I	—II
Індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів Lymphocyte to eosinophil ratio	—I	—I	—II



захисту внаслідок інтоксикації, а також відображає переважання реакцій уповільненого типу над гіперчутливістю негайного типу, що призводить до запуску алергічних механізмів на тлі інтоксикації. Одночасне підвищення ІЗЛК та зниження ІЛГ свідчить про розвиток ендogenousної інтоксикації в курей та порушення у них імунологічної реактивності внаслідок автоінтоксикації організму під час деструкції власних клітин.

## Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження будуть скеровані на вивчення стрес-індукованих порушень в організмі курей, спричинених іншими технологічними стресорами, з використанням інтегральних імуногематологічних індексів.

- Belyaeva EY, Buslovskaya LK. Adaptive reactions and biochemical parameters of the blood of chickens under different light conditions. *Sci. Bull. Belgorod State Univ., Ser. Nat. Sci.* 2012; 21 (140), 21/1: 143–148. Available at: <http://dspace.bsu.edu.ru/handle/123456789/18540> (in Russian)
- Bondarchuk IV, Sydorchuk LP, Sydorchuk IY. Adaptation stress level and cell reactivity in arterial hypertensive patients with coronary heart disease. *Bukovynian Med. Bull.* 2016; 20 (2/78): 16–19. DOI: 10.24061/2413-0737.XX.2.78.2016.62. (in Ukrainian)
- Dawkins MS. Behavior as a tool in the assessment of animal welfare. *Zool.* 2003; 106 (4): 383–387. DOI: 10.1078/0944-2006-00122.
- Derkho MA, Samoilova ES. Integral indices of intoxication as a criterion for assessing the level of endogenous intoxication in babesiosis. *Sci. Notes KSAVM N. E. Bauman.* 2011; 207: 170–177. (in Russian)
- Djuriak VS. Cellular reactivity and stress level adaptivity of patients with community acquired pneumonia. *Clin. Exp. Pathol.* 2015; 14 (4): 32–35. DOI: 10.24061/1727-4338.XIV.4.54.2015.8. (in Ukrainian)
- Fisinin VI, Papazyan T, Suray P. Innovative methods of dealing with stress in poultry. *Poultry Prod.* 2009; 8: 10–14. (in Russian)
- Flügge G. Effects of cortisol on brain alpha2-adrenoceptors: potential role in stress. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1999; 23 (7): 949–956. DOI: 10.1016/S0149-7634(99)00028-7.
- Gao SQ, Huang LD, Dai RJ, Chen DD, Hu WJ, Shan YF. Neutrophil-lymphocyte ratio: a controversial marker in predicting Crohn's disease severity. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015; 8 (11): 14779–14785. PMID: 26823804.
- Heidt T, Sager HB, Courties G, Dutta P, Iwamoto Y, Zaltsman A, von Zur Muhlen C, Bode C, Fricchione GL, Denninger J, Lin CP, Vinegoni C, Libby P, Swirski FK, Weissleder R, Nahrendorf M. Chronic variable stress activates hematopoietic stem cells. *Nat. Med.* 2014; 20 (7): 754–758. DOI: 10.1038/nm.3589.
- Kavtarashvili AS, Kolokolnikova TN. Physiology and productivity of poultry under stress (review). *Agricul. Biol.* 2010; 4: 25–37. Available at: <http://www.agrobiology.ru/4-2010kavtarashvili.html> (in Russian)
- Khabirov TS. The level of the reactive response of neutrophils as an indicator of the severity of endogenous intoxication in abdominal sepsis. *Proc. IX SFULT Congress*, Luhansk. 2002: 223. (in Russian)
- Kholodkovskaya VD, Barabanov AL. Using integral hematological indices to assess severity of endogenous toxicosis in chronic dermatoses. *Internat. Sci. Pract. Conf. "World Sci."* 2015; 3 (2): 69–72.
- Letkin AI. Leukocytal indexes of laying hen blood in nonspecific stress syndrome. *Bull. Altai State Agr. Univer.* 2020; 2 (184): 102–108. Available at: <http://www.asau.ru/vestnik/2020/2/102-108.pdf> (in Russian)
- Lewandowski RA. Cellular and immunological reactivity of the organism in patients after resection of the upper and lower jaws for the removal of malignant tumors. *Clinical and experimental pathology.* 2014; 12 (2): 83–87. (in Ukrainian)
- Marino L. Thinking chickens: a review of cognition, emotion, and behavior in the domestic chicken. *Anim. Cognition.* 2017; 20: 127–147. DOI: 10.1007/s10071-016-1064-4.
- Matolic UD. Diagnostic value of hematological indices in phlegmons of the maxillofacial area and neck. *Sci. Bull. Uzhhorod Univer. Med. Ser.* 2016; 1 (53): 108–110. (in Ukrainian)
- Maxwell MH, Hocking PM, Robertson GW. Differential leucocyte responses to various degrees of food restriction in broilers, turkeys and ducks. *Brit. Poult. Sci.* 1992; 33 (1): 177–187. DOI: 10.1080/00071669208417455.
- Miftakhutdinov AV. Experimental approaches to stress diagnostics in poultry (review). *Agricul. Biol.* 2014; 2: 20–30. DOI: 10.15389/agrobiology.2014.2.20eng. (in Russian)
- Mustafina ZG, Kramarenko YS, Kobtseva VY. Integral hematological parameters in the assessment of the body's immunological reactivity in patients with ophthalmopathology. *Clin. Lab. Diagnost.* 1999; 5: 47–48. (in Russian)
- Nikiforov A. *Neurology: a complete explanatory dictionary.* Moscow, Eksmo. 2010; 464. (in Russian)
- Nwaigwe CU, Ihedioha JJ, Shoyinka SV, Nwaigwe CO. Evaluation of the hematological and clinical biochemical markers of stress in broiler chickens. *Vet. World.* 2020; 13 (10): 2294–2300. DOI: 10.14202/vetworld.2020.2294-2300.
- Ostrovskaya LY, Moshel TM, Ivanytskiy IO. Analysis of haemograms in patients with inflammatory and inflammatory-dystrophic changes of periodontal tissue. *Bull. Probl. Biol. Med.* 2016; 1 (126): 360–363. Available at: <https://vpbm.com.ua/ua/vpbm-2016-01-1/7565> (in Ukrainian)
- Ostrovsky VK. On the indicators of the norm of the leukocyte index of intoxication. *Clin. Lab. Diagnost.* 2003; 1: 45–46. (in Russian)
- Sierzega M, Lenart M, Rutkowska M, Surman M, Mytar B, Matyja A, Siedlar M, Kulig J. Preoperative neutrophil-lymphocyte and lymphocyte-monocyte ratios reflect immune cell population rearrangement in resectable pancreatic cancer. *Ann. Surg. Oncol.* 2017; 24 (3): 808–815. DOI: 10.1245/s10434-016-5634-0.
- Sipliviy VA, Kohn EV, Evtushenko DV. Application of the leukocyte indices for prognostication of peritonitis outcome. *Clin. Surg.* 2009; 9: 21–26. (in Russian)
- Tkachenko EA, Derkho MA. Leukocyte indices in experimental cadmium intoxication in mice. *Proc. Orenburg State Agr. Univer.* 2014; 3: 81–83. (in Russian)
- Radzykhovskii ML, Goralskii LP, Borisovich BV, Dyshkant OV. Integral indexes of intoxication in caninae coronaviridae enteritis. *Sci. Bull. Vet. Med.* 2018; 2: 13–19. DOI: 10.33245/2310-4902-2018-144-2-13-19. (in Ukrainian)
- Raznatovskaya EN. Integral indices of endogenous intoxication in patients with chemoresistant pulmonary tuberculosis. *Curr. Iss. Pharm. Med. Sci. Pract.* 2012; 2 (9): 119–120. (in Russian)
- Rekalova OM, Panasyukova OR, Koval NG. The use of leukocyte indices in immunological evaluation of inflammatory activity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Asthma Allergy.* 2017; 1: 27–33. Available at: <http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/aa/17/pdf17-1/27.pdf> (in Ukrainian)
- Rushen J. Problems associated with the interpretation of physiological data in the assessment of animal welfare. *Appl. Anim. Behaviour Sci.* 1991; 28 (4): 381–386. DOI: 10.1016/0168-1591(91)90170-3.
- Scanes CG. Biology of stress in poultry with emphasis on glucocorticoids and the heterophil to lymphocyte ratio. *Poult. Sci.* 2016; 95 (9): 2208–2215. DOI: 10.3382/ps/pew137.
- Shabalov NP, Ivanov DO, Shabalova NN. Heterogeneity of the systemic inflammatory response in neonatal. *Med. Acad. J.* 2001; 1 (3): 81–90. (in Russian)

33. Stanishevskaya OI, Fedorova ES. Comparative evaluation of the peculiarities of stress reactivity of the Russian white breed chicken with sw+ mutation and amrox in hypothermia conditions during embryonal and early postnatal periods of ontogenesis. *Agricult. Biol.* 2019; 54 (6): 1135–1143. DOI: 10.15389/agrobiol.2019.6.1135rus. (in Russian)
34. Surai P, Fisinin VI. The modern anti-stress technologies in poultry: from antioxidants to vitagenes. *Agricult. Biol.* 2012; 4: 3–13. DOI: 10.15389/agrobiol.2012.4.3eng.
35. Weimer SL, Wideman RF, Scanes CG, Mauromoustakos A, Christensen KD, Vizzier-Thaxton Y. An evaluation of methods for measuring stress in broiler chickens. *Poult. Sci.* 2018; 97 (10): 3381–3389. DOI: 10.3382/ps/pey204.
36. Yabluchanskiy NI, Pilipenko VA, Kondratenko PH. Leukocyte shift index as a marker of the body's reactivity in acute inflammation. *Lab. Work.* 1983; 1: 60–61. (in Russian)
37. Zamaziy AA. Hemocytopoiesis of functionally active newborn calves and calves in the state of hypoxia. *Theor. Appl. Vet. Med.* 2018; 6 (3): 44–49. DOI: 10.32819/2018.63009.
38. Zubchenko SO, Akimova VM, Lapovetz LE. Detection donozological violations under change of integral hematological indices in patients with chronic Epstein-Barr virus infection in latent phase. *Bull. Probl. Biol. Med.* 2014; 4 (1/113): 125–128. Available at: <https://vpbm.com.ua/ua/vpbm-2014-04-1/7214> (in Ukrainian)

## Diagnostic value of integrated immunohematological indices as markers of chronic stress in laying hens

Yu. Osadcha  
seledat@ukr.net

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,  
15 Heroyiv Oborony str., Kyiv, 03041, Ukraine

The study of stress in the conditions of industrial technologies of keeping laying hens and determining the level of technological stressors influence on the physiological state of poultry is a necessary condition for the development of new methods of stress prevention in choosing the best ways to keep them. The aim of the study was to determine the informativeness of integrated immunohematological indices for the diagnosis of stress-induced disorders in laying hens under the influence of technological stressors of varying intensity. Chronic technological stress was modeled by long-term keeping of laying hens at high planting density. The intensity of the stressor was determined by increasing the density of laying hens. Integral immunohematological indices were determined on the basis of an extended general blood test. It has been found that in laying hens, which due to prolonged exposure to high density were in a state of chronic stress, there is a high level of endogenous intoxication and impaired immunological reactivity, as evidenced by increased Leukocyte shift index, Immunoreactivity index, Leukocyte to erythrocyte sedimentation rate ratio, lymphocyte to monocyte ratio, heterophil to monocyte ratio. It is shown that under chronic stress in laying hens there is activation of the cellular part of the immune system, active adaptive response of white blood, as well as the predominance of delayed-type reactions over immediate-type hypersensitivity, as indicated decrease in lymphocyte-granulocyte index, general index, lymphocytic index and lymphocyte to eosinophil ratio. Thus, integrated immunohematological indices are promising markers for the diagnosis of chronic stress in laying hens.

**Key words:** immunohematological indices, laying hens, stress, immunological reactivity, endogenous intoxication



## Ендогенні ретровіруси PERV A/C у геномах свиней українських порід та їх зв'язок з рівнем осалюваності туш

Т. М. Рук

tanya.ryk.77@gmail.com

Львівська медична академія імені Андрея Крупинського,  
вул. Петра Дорошенка, 70, Львів, 79000, Україна

Представлені результати аналізу частоти ретровірусу PERV підтипів А і С у популяціях свиней порід української і зарубіжної селекції. Встановлено різну частоту наявності геному вірусів PERV підтипів А і С у тварин досліджених порід. Найбільшу відносну кількість тварин, повністю вільних від ретровірусів обох типів, спостерігали у групі диких свиней (86%), найменшу — в групах порід полтавська м'ясна і п'єстрен. Тварин, вільних від обох підтипів вірусу, виявляють в усіх досліджуваних групах. У статті розглянуто гіпотезу щодо збільшення у процесі доместикації свиней частоти особин, в геномі яких присутній ретровірус PERV. Інтеграція останнього стала причиною мутації в генах, відповідальній за жировідкладання, яка призводить до збільшення осаленості туш і могла бути підхоплена селекцією в процесі створення порід. Однак очевидного зв'язку розповсюдження вірусу в сучасних породах різного напрямку продуктивності не встановлено. Також відсутній зв'язок між показниками осаленості туш і присутністю в геномі особин PERV. Встановлено, що інформація про розповсюдження PERV A/C у породах свиней, які розводять в Україні, є корисною щодо можливості використання кожної з них для потреб ксенотрансплантації. Також цю інформацію може бути використано для обґрунтування підбору порід-засновників з метою створення ліній свиней, вільних від геному ендогенного ретровірусу.

**Ключові слова:** ДНК-типування, ксенотрансплантація, ендогенні ретровіруси PERV типів А і С, товщина шпигу, породи свиней

Одним із перспективних напрямів для біомедичних досліджень є використання свиней для потреб трансплантології [3]. При цьому важливою проблемою є наявність у геномі тварин ендогенних ретровірусів PERV-A і PERV-C, які можуть бути небезпечними для людини за умови ксенотрансплантації органів свині [5].

Тип ретровірусу А може інфікувати, окрім клітинних ліній свині, деякі лінії клітин людини *in vitro*, а PERV-C здатен до реплікації лише у клітинах свиней [2]. Проте останнім часом з'являється інформація стосовно утворення рекомбінантних вірусів PERV-A/C, які здатні до інфікування клітин людини і демонструють реплікацію з високим титром [2], що є доказом інфекційної компетентності PERV-A/C.

Визначення особин, вільних від PERV-C, позбавить науковців необхідності у проведенні складних генно-інженерних маніпуляцій з нокаутування ДНК цього вірусу, а відомості щодо його відсутності у дикого

європейського кабана [1] можуть бути підставою до виявлення бажаних генних комбінацій в аборигенних українських порід свиней. Тому обов'язковим завданням перед проведенням селекційних заходів має бути генетичний моніторинг вихідних порід тварин щодо їх спадково обумовленої стійкості до стресових факторів і наявності бажаних комбінацій алелів, максимально переведених у гомозиготний стан.

Аналіз PERV у різних порід свійських свиней продемонстрував високу частоту виявлення PERV типів А і В у геномах більшості досліджених тварин, проте досить часто виявляють свиней, у яких відсутній PERV типу С [10]. Особливо це стосується аборигенних свійських порід свиней і диких кабанів. Згідно з гіпотезою [7], поширення PERV у популяціях свійських свиней виникло у процесі їхньої доместикації, яка супроводжувалася підвищенням осаленості туш тварин. Молекулярно-генетичне тестування з метою виявлення свиней-носіїв ендогенного ретровірусу

підтипів А та С дозволить проводити відбір тварин-донорів зі зниженою інфекційною здатністю.

Метою роботи було дослідження розповсюдження ендемічних ретровірусів підтипів А і С в геномах свиней порід, які розводять в Україні, і встановлення можливого зв'язку рівня осаленості туш свиней з присутністю в їхньому геномі PERV-A і PERV-C.

## Матеріали і методи

Весь обсяг досліджень проведений на базі лабораторії генетики Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН.

Для дослідження було відібрано зразки венозної крові та щетини від тварин основного поголів'я миргородської породи (М, n=40, ДП «Дослідне господарство імені Декабристів» Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН); полтавської м'ясної породи (ПМ, n=10, к/з «Деркульський», Луганська обл., та к/з «Стрілецький»); української степової рябої породи (УСР, n=20, Асканія-Нова, Херсонська обл.); в'єтнамської звислочевої породи (В, n=10); великої білої породи (ВБ, n=20, ДПДГ «Гонтарівка» Інституту тваринництва НААН); української м'ясної породи (УМ, n=22, банк ДНК лабораторії генетики Інституту свинарства і АПВ НААН); дикої свині (ДС, n=7) та п'єтрен (П, n=20, Дослідна станція Хоенхаймського університету, Німеччина); свині породи ландрас (Л, n=20, ТОВ «Хлібне», Лозівський р-н, Харківська обл.).

Дослідження з пошуку асоціації між присутністю ДНК вірусів PERV-C і PERV-A у геномі свиней та товщиною шпигу проводили на тваринах миргородської

породи (n=40). Товщину шпигу визначали на рівні 6–7 хребців прижиттєво за допомогою шпигоміра.

ДНК виділяли із крові за допомогою іонобійної смоли (5% робочий розчин *Chelex-100*) [9]. Аналіз ретровірусів PERV проводили методом ПЛР-ПДРФ [4]. Локус-специфічну ампліфікацію проводили за схемою: готували реакційну суміш (25 мкл) — 2,5 мкл універсального 10x PCR буфера, 1 мкл прямого F-праймера (5 мкМ), 1 мкл зворотного R (5 мкМ), 0,1 мкл (5 од. акт.), Taq — ДНК-полімерази (*Thermoscientific*, Литва), 19,4 мкл деіонізованої води та 1 мкл ДНК-матриці, згідно з рекомендаціями, PERV-C [11], PERV-A [12] та  $\alpha$ -Actin [6].

Реакцію проводили в термоциклері «Терцик-2» («ДНК-технологія», Російська Федерація). На реакційну суміш нашаровували 25 мкл мінерального масла. Програма ампліфікації: 95°C — 2 хв.; 35 циклів: 95°C — 30 с, (відпал праймерів) °C — 30 с, 72°C — 3 хв, 72°C — 5 хв.

Структура праймерів [1], температура відпалу праймерів, довжина амплікатів і фрагменти рестрикції представлені у табл. 1.

Електрофорез продуктів ампліфікації проводили у 2% агарозному гелі у тріс-боратному електрофорезному буфері. Гелі фарбували розчином бромистого етидію (0,5 мкг/мл) протягом 10 хв з наступним багаторазовим відмиванням їх у дистильованій воді. Візуалізацію фрагментів ДНК проводили в УФ-світлі.

Фотодокументацію здійснювали цифровою фотокамерою *Canon Power Shot/S-S3*.

Популяційно-генетичні характеристики обчислювали за допомогою *Excel 2007* з подальшою побудовою графіків і таблиць.

**Таблиця 1.** Умови ампліфікації генів  
**Table 1.** Gene amplification conditions

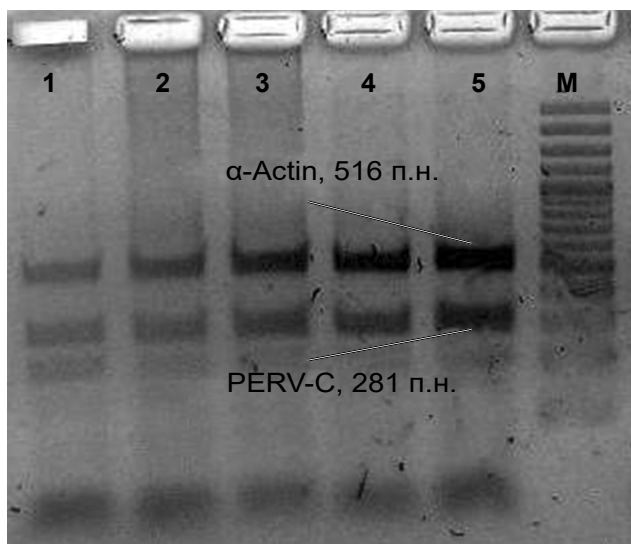
Ген Gene	Структура праймерів Primer structure	Амплікон / температура відпалу Amplicon / annealing temperature
PERV-C	F: 5/-CTGACCTGGATTAGAACTGG-3/	281 п.н. / 65°C
	R: 5/-ATGTTAGAGGATGGTCTCTGG-3/	
PERV-A	F: 5/-TCCGTGCTTACGGGTTTAC-3/	224 п.н. / 60°C
	R: 5/-TTGCCAATCTTTCCATCTCC-3/	
$\alpha$ -Actin	F: 5/-CGCCATGTGTGACGAAGACGAGACC-3/	516 п.н. / 62,5°C
	R: 5/-CACGTACATGGCGGGCACGTTGAAG-3/	

## Результати й обговорення

Виявлення геномів ретровірусів у спадковому матеріалі клітин тварин передбачає ПЛР-ампліфікацію фрагмента ДНК вірусів. При цьому критерієм коректного проведення ПЛР зазвичай є ампліфікація

у зразку ДНК тварини фрагмента одного з генів «внутрішньої будови» клітини. У нашій роботі це був ген  $\alpha$ -Actin, фрагмент якого розміром 516 п.н. виявляли на електрофореграмі у кожному з досліджуваних зразків і який слугував внутрішнім позитивним контролем ампліфікації у форматі дуплексної ПЛР (рис. 1, 2).



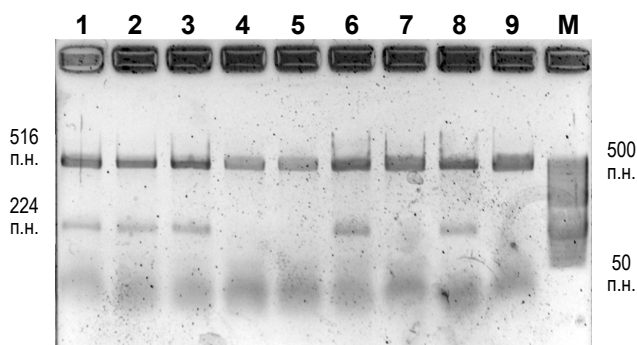


**Рис. 1.** ДНК свиней миргородської породи, електрофорез у 2% агарозному гелі продуктів мультиплекс ПЛР PERV-C —  $\alpha$ -Actin (LAPC).

M — маркер молекулярної маси, 50 bp DNA Ladder (від 50 до 500 bp); 1–5 — продукти мультиплекс ПЛР PERV-C —  $\alpha$ -Actin (LAPC)

**Fig. 1.** DNA of Myrhorod pigs, electrophoresis in 2% agarose gel of PERV-C —  $\alpha$ -Actin (LAPC) PCR multiplex products.

M — a molecular weight marker, 50 bp DNA Ladder (from 50 to 500 bp); 1–5 — multiplex PCR product PERV-C —  $\alpha$ -Actin (LAPC)



**Рис. 2.** ДНК свиней миргородської породи, електрофорез у 2% агарозному гелі продуктів мультиплекс ПЛР PERV-A —  $\alpha$ -Actin (LAPC).

M — маркер молекулярної маси, 50 bp DNA Ladder (від 50 до 500 bp); 1–3, 6, 8 — продукти мультиплекс ПЛР PERV-A +  $\alpha$ -Actin (LAPC);

4, 5, 9 — зразки, у яких відсутній ген PERV-A

**Fig. 2.** DNA of Myrhorod pigs, electrophoresis in 2% agarose gel of PERV-A —  $\alpha$ -Actin (LAPC) PCR multiplex products.

M — molecular weight marker, 50 bp DNA Ladder (from 50 to 500 bp); 1–3, 6, 8 — products of multiplex PCR PERV-A +  $\alpha$ -Actin (LAPC); 4, 5, 9 — samples with no PERV-A gene

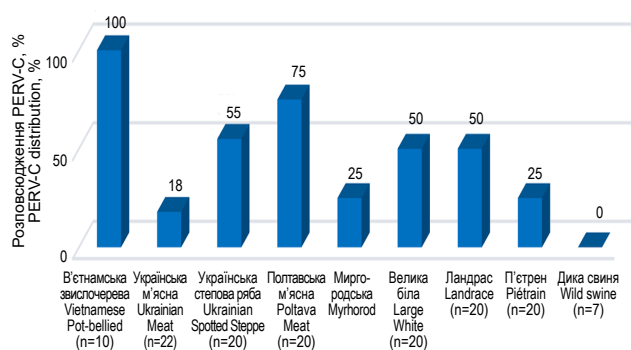
Проведено аналіз геномів ретровірусів PERV-C і PERV-A у свиней різних порід і напрямів продуктивності. У субпопуляції дикої свині носіїв ретровірусу PERV-C не виявлено, що узгоджується з даними [10] про їх відсутність серед свиней «дикого типу» (рис. 3).

Найменшою частотою носіїв геномів ретровірусів PERV-C характеризувалися субпопуляції свиней української м'ясної породи, миргородської та породи п'єтрен. Водночас вірус PERV-C виявлено у всіх досліджених свиней в'єтнамської звислочеревої породи. Високий рівень розповсюдження цього підтипу ретровірусу спостерігали у полтавській м'ясній породі; серед свиней порід українська степова ряба, ландрас і велика біла — у половини тварин виявлено геном PERV-C. Наші дані загалом підтверджують результати, отримані іншими авторами про розповсюдження PERV-C у популяціях свиней сальних порід [7] — у в'єтнамській звислочеревої і українській степовій рябій, які належать до порід зазначеного напрямку продуктивності, частота становила 100% та 55% відповідно. Однак варто зауважити, що різниця між частотами PERV-C, які трапляються в досліджуваних субпопуляціях, не завжди статистично підтверджувалася (рис. 3).

Аналіз наявності геному вірусів PERV підтипу А в субпопуляціях свиней досліджуваних порід також виявив їх різну частоту (рис. 4). В особин, які представляють групу дикого кабана, породи ландрас і українську степову рябу, PERV-A виявляли з відносно низькою частотою, тоді як всі свині в'єтнамської звислочеревої породи були носіями цього вірусу. У полтавській м'ясній породі його частка сягала 90%, дещо меншою вона встановлена в субпопуляціях миргородської і великої білої порід. Примітно, що найменшою частотою носіїв обох підтипів вірусу характеризувалися дикі свині. Навпаки, у в'єтнамській звислочеревої породи всі тварини несли обидва геноми. Також з високими частотами траплялися віруси PERV обох підтипів у геномах тварин із субпопуляції полтавської м'ясної породи.

Загалом аналіз наявності в геномі свиней PERV вірусів підтипів С або/та А призвів до такого результату: вільні від обох підтипів вірусу тварини виявляються в усіх досліджуваних групах (табл. 2).

Найбільшу відносну кількість тварин, повністю вільних від ретровірусів обох типів, спостерігали у групі диких свиней (86%), найменшу — в групах порід полтавської м'ясної і п'єтрен. Цей результат частково узгоджується з твердженнями про те, що підвищене відкладення жиру у свійських свиней, порівняно з дикими чи ранніми domestikованими формами, є генетичною аномалією, до виникнення якої призвело порушенням структури генів кількісних ознак внаслідок вставки ретровірусу PERV [8]. Однак селекція свиней на покращення м'ясних якостей, як це впливає з результатів аналізу полтавської м'ясної породи і п'єтрен (ультрам'ясна порода), не призвела до зменшення частоти геномів ретровірусів PERV обох підтипів в їхніх популяціях [10]. Водночас в інших м'ясних породах, ландрас і українській м'ясній, частка тварин, вільних від геномів обох вірусів, значно вища і сягає 23 і 35% відповідно. Частка таких особин в українській степовій рябій породі, для якої характерна значна

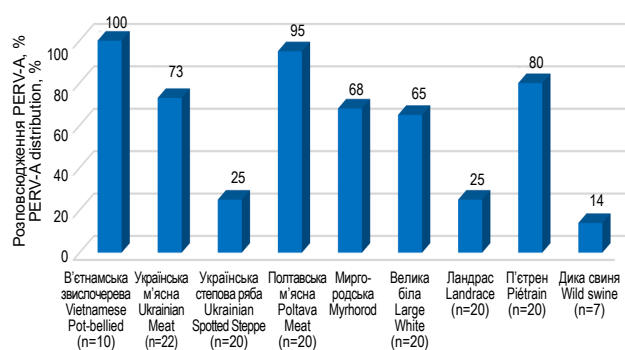


**Рис. 3.** Розповсюдження підтипу ретровірусу PERV-C у вибірках свиней вітчизняних та іноземних порід  
**Fig. 3.** Distribution of PERV-C retrovirus subtype in samples of domestic and foreign pigs

**Примітка.** Статистично підтверджені відмінності між субпопуляціями:  $P < 0,001$  — В/УМ, В/П, В/М;  $P < 0,01$  — В/УСР, В/ВБ, В/Л, В/ДС, УМ/ПМ, ПМ/М, ПМ/П, ПМ/ДС;  $P < 0,05$  — В/ПМ, УМ/УСР, УСР/ДС, М/ДС, ВБ/ДС, Л/ДС.  
**Note.** Statistically significant differences between subpopulations:  $P < 0,001$  — V/UM, V/P, V/M;  $P < 0,01$  — V/USS, V/LW, V/L, V/W, UM/PM, PM/M, PM/P, PM/W;  $P < 0,05$  — V/PM, UM/USS, USS/W, M/W, LW/W, L/W.

осаленість туш, перебуває на такому ж рівні (30%). Можна припустити, що до селекційного процесу, спрямованого на зменшення осаленості туш і збільшення виходу м'яса, залучені й інші локуси геному, а не лише ті, де відбулася інтеграція вірусної ДНК. Адже відомо, що ознака відкладання жиру у тварини має полігенну природу і залежить від дії багатьох генів.

Загалом наші дані вписуються у контекст гіпотези про збільшення у процесі доместики свиней частоти виявлення особин, в геномі яких присутній ретровірус PERV. Це твердження впливає з ана-



**Рис. 4.** Розповсюдження підтипу ретровірусу PERV-A у вибірках свиней вітчизняних і закордонних порід  
**Fig. 4.** Distribution of PERV-A retrovirus subtype in samples of domestic and foreign breeds of pigs

**Примітка.** Статистично підтверджені відмінності між субпопуляціями:  $P < 0,001$  — В/УСР, В/Л, УСР/ПМ, П/Л;  $P < 0,01$  — В/М, В/ДС, УМ/Л, УСР/М, УСР/П, Л/П, ПМ/ДС;  $P < 0,05$  — В/УМ, В/ВБ, В/П, УМ/ДС, ПМ/М, ПМ/ВБ, ВБ/Л, П/ДС.  
**Note.** Statistically significant differences between subpopulations:  $P < 0,001$  — V/USS, V/L, USS/PM, P/L;  $P < 0,01$  — V/M, V/W, UM/L, USS/M, USS/P, L/P, PM/W;  $P < 0,05$  — V/UM, V/LW, V/P, UM/W, PM/M, PM/LW, LW/L, P/W.

лізу геномів особин із субпопуляцій диких свиней і низки сучасних порід. Але щодо зв'язку залежності частоти розповсюдження PERV у породах від на-пряму їхньої продуктивності і, відповідно, від характерного для породи рівня осаленості туш, отримані дані не свідчать на користь такого зв'язку. Однак це не унеможливорює його існування на індивідуальному рівні в межах окремої субпопуляції. Останнє можна перевірити, провівши асоціативний аналіз тварин, оцінених за одним із основних показників відкладання жиру — товщиною спинного жиру.

**Таблиця 2.** Тварини з ретровірусом PERV типів А та С  
**Table 2.** Animals with PERV retrovirus types A and C

Породи свиней Breeds of pigs	З обома типами With both types		Повністю вільні Completely free	
	Частка від загальної кількості Part of the total	%	Частка від загальної кількості Part of the total	%
Миргородська / Myrhorod	6/40	15	9/40	23
В'єтнамська звислочерева Vietnamese Pot-bellied	10/10	100	0/10	—
Українська м'ясна / Ukrainian Meat	3/22	14	5/22	23
Українська степова ряба Ukrainian Spotted Steppe	2/20	10	6/20	30
Полтавська м'ясна / Poltava Meat	15/20	75	1/20	5
Велика біла / Large White	9/20	45	6/20	30
Ландрас / Landrace	2/20	10	7/20	35
П'єтрен / Piétrain	3/20	15	1/20	5
Дика свиня / Wild swine	0/7	—	6/7	86

**Таблиця 3.** Корелятивний зв'язок між наявністю вірусів у геномі свиней миргородської породи і товщиною спинного жиру  
**Table 3.** Correlation between the presence of viruses in the genome of Myrhorod pigs and the thickness of spinal fat

Присутність вірусів в геномі тварин The presence of viruses in the genome of animals	n (номер групи) n (group number)	Товщина шпигу, мм Fat thickness, mm	Коефіцієнт кореляції (r) Correlation coefficient (r)
PERV-C <sup>+</sup> PERV-C <sup>-</sup>	10 (I)	33,00±1,96	0,553
	30 (II)	31,97±2,57	
PERV-A <sup>+</sup> PERV-A <sup>-</sup>	27 (III)	31,33±0,78	0,083
	13 (IV)	34,08±1,51	
PERV-A <sup>+</sup> чи C <sup>+</sup> PERV-A <sup>-</sup> /C <sup>-</sup>	31 (V)	31,97±1,72	0,527
	9 (VI)	33,11±1,59	
PERV-A <sup>+</sup> +C <sup>+</sup>	6 (VII)	30,83±1,23	0,510
PERV-A <sup>-</sup> /C <sup>-</sup>	8 (VIII)	32,50±1,28	

Асоціативний аналіз проведено на групі свиней миргородської породи. Його метою було встановлення зв'язку між наявністю в геномі тварин ДНК ретровірусу PERV і товщиною спинного жиру. Результати аналізу представлені у табл. 3.

Відзначимо, що серед тварин із PERV-C товщина шпигу коливалася від 26 до 45 мм у свинок родини Русалки. Серед свиней без PERV-C товщина шпигу варіювала від 25 мм у тварини №1010 з родини Зорьки до 40 мм в особини №154 з родини Ласкавої. Можна відзначити значні межі варіювання досліджуваної ознаки навіть в межах однієї родини, що свідчить про формальне зарахування тварин до певної родини і відсутність спрямованої селекції всередині генеалогічних родин та їхню генетичну гетерогенність.

Аналіз асоціації товщини шпигу у тварин миргородської породи з присутністю в їх геномі PERV-C, PERV-A не виявив статистично підтверджених результатів. Можна говорити лише про певну тенденцію до такої асоціації щодо PERV-A. У цьому випадку свині, в геномі яких відсутній PERV-A, характеризувалися більшою товщиною шпигу. Можливо, за збільшення кількості дослідних тварин цей зв'язок матиме статистичне підтвердження. Але це суперечить припущенню про позитивний зв'язок між присутністю в геномі вірусу і рівнем осаленості туші.

Отримані нами результати дослідження підтверджують гіпотезу про збільшення товщини шпигу у процесі доместикації свиней, у геномі яких присутній ретровірус PERV. Інтеграція останнього стала причиною мутації в QTL жировідкладання, що призвело до збільшення осаленості туш і ця ознака могла бути підхоплена селекцією в процесі створення порід. Однак очевидного зв'язку розповсюдження вірусу в сучасних породах різного напрямку продуктивності не встановлено. Також відсутній зв'язок між одним з основних показників осаленості туші і присутністю в геномі особини ДНК PERV.

## Висновки

Встановлене розповсюдження PERV двох підтипів у породах свиней, яких розводять в Україні, надає інформацію про можливість і доцільність використання кожної з них для потреб ксенотрансплантації. З іншого боку, ця інформація може лягти в основу підбору порід-засновників для створення ліній свиней, вільних від геному ендогенного ретровірусу. Крім того, відсутність або незначне розповсюдження PERV у популяціях диких свиней і в аборигенних породах є додатковим важливим аргументом на користь їх збереження і використання.

## Перспективи подальших досліджень

У наступних дослідках плануємо вивчити імуні-генетичні і молекулярні характеристики інших порід свиней, яких розводять в Україні, для визначення можливості їх використання для ксенотрансплантації.

## Дотримання етичних стандартів

Всіх міжнародних, національних і/або інституційних принципів догляду та використання тварин було дотримано.

- Guo F, Xing X, Hawthorne WJ, Dong Q, Ye B, Zhang J, Liang Q, Nie W, Wang W. Characterization of PERV in a new conserved pig herd as potential donor animals for xenotransplantation in China. *Virology*. 2014; 11: 212. DOI: 10.1186/s12985-014-0212-1.
- Harrison I, Takeuchi Y, Bartosch B, Stoye JP. Determinants of high titer in recombinant porcine endogenous retroviruses. *J. Virol.* 2004; 78 (24): 13871–13879. DOI: 10.1128/JVI.78.24.13871-13879.2004.
- Hering BJ, Cooper DK, Cozzi E, Schuurman HJ, Korbitt GS, Denner J, O'Connell PJ, Vanderpool HY, Pierson RN. The inter-

- national xenotransplantation association consensus statement on conditions for undertaking clinical trials of porcine islet products in type 1 diabetes-executive summary. *Xenotransplantation*. 2009; 16 (4): 196–202. DOI: 10.1111/j.1399-3089.2009.00547.x.
4. Hlazko VY, Shulha EV, Dyman TN, Hlazko HV. *DNA technologies and bioinformatics in solving the problems of mammalian biotechnology*. Bila Tserkva, 2001: 488 p. (in Russian)
  5. Kimsa MC, Strzalka-Mrozik B, Kimsa MW, Gola J, Nicholson P, Lopata K, Mazurek U. Porcine endogenous retroviruses in xenotransplantation — molecular aspects. *Viruses*. 2014; 6 (5): 2062–2083. DOI: 10.3390/v6052062.
  6. Lin CL, Ponsuksili S, Tholen E, Jennen DG, Schellander K, Wimmers K. Candidate gene markers for sperm quality and fertility of boar. *Anim. Reprod. Sci.* 2006; 92 (3–4): 349–363. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2005.05.023.
  7. Nikitin SV, Yudin NS, Knyazev SP, Aitnazarov RB, Bekenev VA, Deeva VS, Goncharenko GM, Kobzev VF, Savina MA, Ermolaev VI. Differentiation of wild boar and domestic pig populations based on the frequency of chromosomes carrying endogenous retroviruses. *Nat. Sci.* 2010; 2 (6): 527–534. DOI: 10.4236/ns.2010.26066.
  8. Nikitin SV, Yudin NS, Knyazev VA, Aitnazarov RB, Kobzev VF, Bekenev VA, Savina MA, Yermolaev VI. Frequency of chromosomes carrying endogenous retroviruses in the populations of domestic pig and wild boar. *Russ. J. Gen.* 2008; 44 (6): 686–693. DOI: 10.1134/S1022795408060082. (in Russian)
  9. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex-100 as a medium for extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques*. 1991; 10 (4): 506–513. Available at: <https://www.future-science.com/doi/10.2144/000114018>
  10. Yudin NS, Aitnazarov RB, Ermolaev VY. Endogenous retrovirus in pigs: how high is the risk of infection with xenotransplantation? *Vavilov J. Gen. Breed.* 2011; 15 (2): 340–350. Available at: [http://www.bionet.nsc.ru/vogis/pict\\_pdf/2011/15\\_2/13.pdf](http://www.bionet.nsc.ru/vogis/pict_pdf/2011/15_2/13.pdf) (in Russian)

## Endogenic retroviruses of PERV A/C in genome of Ukrainian pigs and their relationship with the level of fat in carcasses

T. M. Ryk

tanya.ryk.77@gmail.com

Andrei Krupynskyi Lviv Medical Academy,  
70 Petro Doroshenko str., Lviv, 79000, Ukraine

The article presents the analysis of the PERV retrovirus subtypes A and C frequency in populations of Ukrainian and foreign breed pigs. Different frequencies of the PERV A/C genome presence in animals of the studied breeds were established. The largest relative number was observed in the group of wild pigs (86%), the smallest was in the groups of Poltava meat and Piétrain breeds. Animals free of both virus subtypes were found in all study groups. The article considers the hypothesis of an increase in the frequency of PERV retrovirus in the pigs' genome during domestication. Its integration caused a gene mutation responsible for fat deposition which led to increased fat amount in carcasses and could be picked up by selection in the process of creating breeds. However, there is no obvious link between the spread of the virus in modern breeds in different areas of productivity. Also, there is no association between carcass fat amount and the presence of PERV in the genome. It is established that the information on the PERV A/C distribution in pig breeds hold in Ukraine is useful in terms of the possibility of using each of them for xenotransplantation. Also, this information can be used to justify the selection of founding breeds in order to create lines of pigs free from the endogenous retrovirus genome.

**Key words:** DNA typing, xenotransplantation, endogenous PERV retroviruses of types A and C, fat thickness, pig breeds



## Роль етапу дегідратації в розвитку постгіпертонічного гемолізу еритроцитів ссавців

О. Є. Ніпот, О. О. Шапкіна, П. М. Зубов, Н. В. Орлова, Н. М. Шпакова

nipotel71@gmail.com

Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАН України,  
вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61016, Україна, [cyuo@online.kharkov.ua](mailto:cyuo@online.kharkov.ua)

Метою роботи було оцінити рівень пошкодження еритроцитів ссавців за умов постгіпертонічного шоку залежно від концентрації NaCl в середовищі дегідратації та визначити вплив гіпертонічних розчинів NaCl на стан еритроцитів ссавців методом проточної цитометрії. Для досягнення мети використовували спектрофотометричні та цитометричні методи дослідження. Отримані дані показали, що постгіпертонічний лізис еритроцитів ссавців залежить від концентрації NaCl у середовищі дегідратації, при цьому найчутливішими до дії постгіпертонічного шоку є еритроцити щура, найменш чутливими — клітини кролика. Цитометричні дослідження виявили значні зміни гістограм розподілу еритроцитів усіх видів ссавців за зростання концентрації солі в середовищі дегідратації. Ці зміни є видоспецифічними і, ймовірно, пов'язані зі зміною об'єму та морфології клітин. Отримані дані дозволили виявити взаємозв'язок між рівнем постгіпертонічного гемолізу та значеннями таких показників, як медіана розподілу та коефіцієнт варіації. Так, підвищення чутливості еритроцитів ссавців до постгіпертонічного шоку зі збільшенням концентрації солі і середовищі дегідратації зазвичай супроводжувалося зменшенням значення медіани розподілу клітин, а вищі значення коефіцієнту варіації характерні для еритроцитів ссавців, що є стійкими до дії постгіпертонічного шоку.

**Ключові слова:** еритроцити ссавців, дегідратація, постгіпертонічний шок, цитометрія, медіана розподілу, коефіцієнт варіації

Вивчення механізмів кріопшкоджень і кріозахисту, які реалізуються на різних етапах низькотемпературного консервування клітин, зокрема на етапі розморожування, залишається однією з актуальних проблем сучасної кріобіології [4]. Одним з факторів кріопшкодження, який суттєво впливає на стан еритроцитів, є концентрування сольових розчинів під час виморожування води. Вплив цього фактора може бути визначальним на етапі розморожування еритроцитів, коли в міру танення льоду умови гіпертонічного оточення клітин змінюються на ізотонічні і еритроцити внаслідок різкої зміни осмотичних умов лізують. Для вивчення цього явища використовують модель постгіпертонічного шоку. Протокол експерименту містить витримання клітин у гіпертонічних розчинах і наступне переміщення їх в ізотонічні умови [14, 15]. Сучасні уявлення про механізм постгіпертонічного шоку еритроцитів людини охоплюють пошкодження мембрани на етапі дегідратації, коли

відбувається проникнення іонів натрію з позаклітинного середовища та зв'язування їх з білковими молекулами всередині клітини. Накопичення надлишкових катіонів призводить до додаткового входу води до клітин на етапі регідратації. Як наслідок, об'єм еритроцитів збільшується і за перевищення значень критичного гемолітичного об'єму клітини руйнуються [11].

На відміну від еритроцитів людини, вивченню яких за умов кріоконсервування присвячено багато робіт [4, 9, 11, 17], еритроцити тварин за цих умов вивчені недостатньо. Порівняльні дослідження, у яких вивчено реакцію клітин різних видів ссавців на дію постгіпертонічного шоку, можуть бути важливими як для галузі кріобіології, так і в загальнобіологічному плані. Крім того, отримані результати можуть слугувати підґрунтям для формування уявлень щодо механізмів кріопшкодження еритроцитів ссавців за їх низькотемпературного консервування.



Мета роботи — вивчити рівень пошкодження еритроцитів ссавців за умов постгіпертонічного шоку залежно від концентрації NaCl в середовищі дегідратації і визначити вплив гіпертонічних розчинів NaCl на стан еритроцитів ссавців методом проточної цитометрії.

## Матеріали і методи

Для дослідження використовували еритроцити, отримані з донорської крові людини (*Homo sapiens*), щура (*Rattus norvegicus*) і кролика (*Oryctolagus cuniculus*), заготовленої на гемоконсерванті «Глюгіцир» (Біофарма, Україна). Роботу з тваринами проводили відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах» (V Національний конгрес з біоетики, Київ, 2013), узгоджених з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Після видалення плазми еритромасу двічі відмивали центрифугуванням (центрифуга «ОПН-ЗУ4.2», Киргизстан) за 1000 g протягом 3 хвилин у 10-кратному об'ємі фізіологічного розчину (NaCl 0,15 моль/л; Na-фосфатний буфер 0,01 моль/л, pH 7,4). Лейкоцитарну плівку і супернатант видаляли аспірацією після кожного центрифугування. Еритроцити зберігали у вигляді щільного осаду не більше 4 годин за температури 0°C. Всі середовища приготовані на фосфатному буфері (0,01 моль/л, pH 7,4). Концентрацію розчинів контролювали вимірюванням осмоляльності на осмометрі ОМКА 1Ц 01 (Україна).

Постгіпертонічний шок здійснювали перенесенням еритроцитів з гіпертонічного розчину (етап дегідратації, 0,4–2,0 моль/л NaCl) в ізотонічний розчин (етап регідратації, 0,15 моль/л NaCl) за 37°C.

Ступінь гемолізу контролювали визначенням рівня гемоглобіну у досліджуваних зразках. Вміст гемоглобіну в супернатанті визначали спектрофотометричним методом на СФ-4А з проточною кюветою за довжини хвилі 543 нм і виражали у відсотках щодо 100%-го гемолізу еритроцитів. За 100% приймали поглинання проб, до яких додавали детергент тритон Х-100 у концентрації 0,1%.

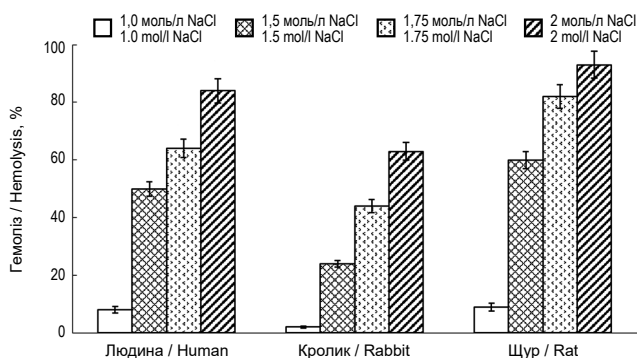
Цитометричні дослідження проводили на проточному цитофлуориметрі «FACS Calibur» (Becton Dickinson, США). Медіану та коефіцієнт варіації визначали за даними розподілу клітин на основі показників прямого світлорозсіювання (FCS) за довжини хвилі аргонного лазера 488 нм. Під час кожного виміру прораховували 20 000 подій. Еритроцити інкубували протягом 20 хв при 37°C в розчинах NaCl (0,4–2,0 моль/л), приготованих на фосфатному буфері (0,01 моль/л, pH 7,4). Контрольні зразки еритроцитів інкубували у фізіологічному розчині (NaCl 0,15 моль/л; фосфатний буфер 0,01 моль/л, pH 7,4). Вміст клітин у зразку вимірювання 10<sup>6</sup> кл/мл. Експериментальні дані об-

робляли за допомогою програми *Flowing Software 2.5.1* (Turku Bioscience, Фінляндія).

Кожен експеримент проводили не менше 6 разів з використанням двох паралельних проб. Для всіх зразків проводили обчислення середнього арифметичного значення і значення середньоквадратичної помилки ( $M \pm m$ ). Отримані експериментальні результати статистично обробили за допомогою програми *Statistica 6.0* (StatSoft Inc., США).

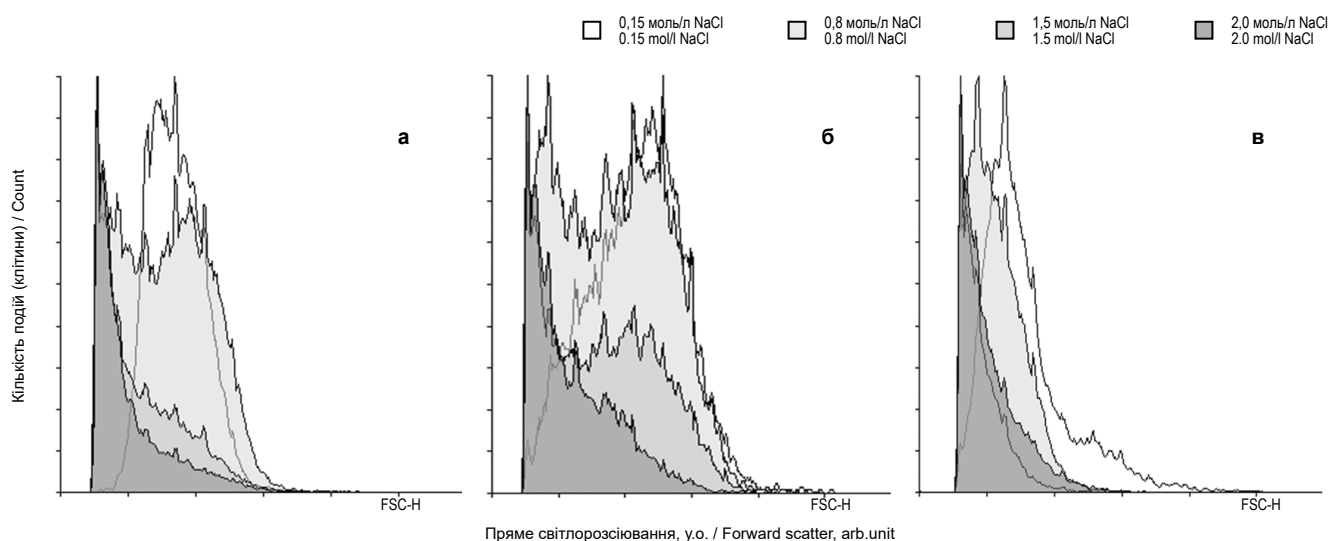
## Результати й обговорення

Дослідження впливу різних концентрацій NaCl в середовищі дегідратації на постгіпертонічний лізис (ПГЛ) еритроцитів ссавців показало, що пошкодження клітин спостерігали за концентрації солі в середовищі дегідратації 1,0 моль/л та вище. На рис. 1 наведені дані щодо ПГЛ еритроцитів людини і тварин залежно від концентрації хлориду натрію у середовищі дегідратації. Видно, що за умов преінкубації клітин різних ссавців в розчині 1,0 моль/л NaCl рівень гемолізу має видові особливості і перебуває в межах від  $3 \pm 1,5\%$  для еритроцитів кролика до  $10 \pm 2\%$  для клітин щура. Подальше збільшення концентрації солі в середовищі дегідратації призводить до підвищення рівня ПГЛ клітин. За концентрації NaCl в середовищі дегідратації 2,0 моль/л рівень ПГЛ еритроцитів людини і щура достатньо високий і складає  $82 \pm 7\%$  та  $93 \pm 6\%$  відповідно. Натомість для еритроцитів кролика рівень ПГЛ становить  $63 \pm 8\%$ . Отримані дані свідчать, що найчутливішими до дії постгіпертонічного шоку є еритроцити щура, найменш чутливими — клітини кролика.



**Рис. 1.** Залежність постгіпертонічного гемолізу еритроцитів ссавців від концентрації солі у середовищі дегідратації за 37°C  
**Fig. 1.** The dependence of post-hypertonic hemolysis of mammalian erythrocytes on the salt concentration in the dehydration medium at 37°C

З огляду на вищесказане, було доцільно провести порівняльну оцінку стану еритроцитів різних видів ссавців у гіпертонічних розчинах за допомогою методу проточної цитометрії. Якісна оцінка даних виявила значні зміни розподілу еритроцитів усіх видів ссавців



**Рис. 2.** Типові гістограми розподілу еритроцитів ссавців: а — людина, б — кролик, в — щур  
**Fig. 2.** Typical histograms of mammalian erythrocyte distribution: a — human, b — rabbit, c — rat

за зростання концентрації солі в середовищі дегідратації (рис. 2). Оскільки максимальна кількість клітин, які характеризуються певним значенням світлорозсіювання, є різною для кожного вимірювання (розподілу), цей параметр нормували, взявши за одиницю максимальне значення кількості подій (клітин). Під час аналізу гістограм розподілу еритроцитів ссавців можна вказати на кілька особливостей, які можуть бути пов'язані з морфологічними характеристиками популяції клітин у певному гіпертонічному розчині. Так, за концентрації NaCl 0,8 моль/л крива розподілу еритроцитів людини і кролика має два максимуми (рис. 2а, 2б), що характерно для клітин плоскої форми [6, 7, 13, 17]; для еритроцитів щура такої особливості не спостерігають. За концентрацій NaCl 1,5 і 2,0 моль/л крива розподілу еритроцитів усіх видів ссавців поступово звужується (рис. 2), що може вказувати на формування популяції клітин сферичної форми [6, 10].

Чисельним відображенням розподілу клітин при цитометричних дослідженнях зазвичай є медіана. Її значення пропорційне ступеню розсіювання світла і сигналізує про розмір клітин та їхні морфологічні характеристики [1, 10, 13, 16]. Середні значення медіани розподілу еритроцитів досліджуваних ссавців наведені у табл. 1.

Як видно з табл. 1, контрольне значення медіани розподілу еритроцитів у фізіологічному розчині є видоспецифічним і зменшується в ряду людина > кролик > щур. Це добре узгоджується з розмірами клітин ссавців, отриманими іншими методами (мікроскопія). Так, за зменшенням значення діаметра еритроцити ссавців розташовуються в такій же послідовності (людина > кролик > щур) [2, 3, 12].

Аналізуючи отримані результати (табл. 1), можна зазначити, що у гіпертонічних середовищах значення медіани розподілу еритроцитів зазвичай менше від контрольного, що спричинене зменшенням об'єму клі-

тин внаслідок виходу води [1, 5]. З іншого боку, відомо [6, 8, 19, 13], що в гіпертонічних розчинах змінюються морфологічні характеристики клітин; це теж має вплив на значення медіани розподілу. У середовищі 0,8 моль/л NaCl (порівняно з 0,4 моль/л NaCl) еритроцити людини характеризуються морфологічною різноманітністю зі значною часткою плоских форм, що призводить до збільшення значення медіани. В розчинах, які містять 1,0 та 1,5 моль/л NaCl, значення медіани зменшується для клітин усіх ссавців, що може бути пов'язане з ростом популяції сфероцитів [16]. Цікавою особливістю еритроцитів щура, найчутливіших до постгіпертонічного шоку, є збільшення медіани у розчинах, які містять 1,75 та 2,0 моль/л NaCl — порівняно з 1,0 та 1,5 моль/л NaCl. Це може вказувати на збільшення об'єму клітин щура внаслідок порушення бар'єрної функції мембрани і входу іонів натрію усередину клітини.

Інформацію про рівень мінливості набору даних у межах розподілу надає коефіцієнт варіації. Ця метрика показує, наскільки характеристики клітин відрізняються від середнього значення (табл. 2).

Як видно з табл. 2, еритроцити щура характеризуються сталим значенням коефіцієнту варіації за зміни умов середовища, на відміну від клітин людини та кролика. Цей факт може вказувати на меншу гетерогенність популяції еритроцитів щура і, як наслідок, меншу здатність до трансформації клітин у різних гіпертонічних середовищах.

Порівнюючи між собою серії гістограм клітин досліджуваних ссавців, можна виокремити деякі особливості, які співвідносяться з рівнем чутливості еритроцитів до постгіпертонічного шоку. Еритроцити кролика, найстійкіші до постгіпертонічного шоку, характеризуються високими показниками коефіцієнта варіації у розчинах, які містять 1,0–2,0 моль/л NaCl, порівняно з еритроцитами щура. Можна припустити,

**Таблиця 1.** Середні значення медіани (у.о.) розподілу еритроцитів ссавців за параметром FSC (пряме розсіювання) у розчинах NaCl  
**Table 1.** Mean values of the median (arb. unit) distribution of mammalian erythrocytes by the parameter FSC (direct scattering) in NaCl solutions

Еритроцити ссавців Mammalian erythrocytes	Концентрація NaCl, моль/л NaCl concentration, mol/l						
	0,15	0,4	0,8	1,0	1,5	1,75	2,0
Людина / Human	205±19	109±9	197±11	145±8	108±13	107±10	94±8
Кролик / Rabbit	168±14	173±12	169±15	96±11	79±7	84±6	79±9
Щур / Rat	144±18	114±12	114±11	87±9	75±14	93±5	99±11

**Таблиця 2.** Середні значення коефіцієнту варіації (у.о.) розподілу еритроцитів ссавців за параметром FSC (пряме розсіювання) у розчинах NaCl  
**Table 2.** The average values of the coefficient of variation (arb. unit) of the mammalian erythrocytes distribution by the parameter FSC (direct scattering) in NaCl solutions

Еритроцити ссавців Mammalian erythrocytes	Концентрація NaCl, моль/л / NaCl concentration, mol/l						
	0,15	0,4	0,8 8	1,0	1,5	1,75	2,0
Людина / Human	30±6	44±9	46±	52±10	54±11	50±9	45±6
Кролик / Rabbit	24±5	32±8	42±6	52±7	50±12	56±11	57±7
Щур / Rat	38±2	32±8	36±3	36±4	32±5	39±5	34±3

що в популяції еритроцитів кролика навіть у високо-концентрованому сольовому розчині зберігається частина клітин несферичної форми, стійких до постгіпертонічного шоку. Водночас ймовірно, що для клітин щура частка сфероцитів, які зазнають пошкодження під час переміщення клітин із гіпертонічних в ізотонічні умови, є вагомшою.

## Висновки

Еритроцити ссавців мають різний рівень постгіпертонічного пошкодження і за зменшенням чутливості до постгіпертонічного шоку їх можна розташувати у послідовності щур > людина > кролик. Рівень постгіпертонічного лізису залежить від концентрації NaCl у середовищі дегідратації. Для еритроцитів різних видів ссавців спостерігається взаємозв'язок між рівнем постгіпертонічного гемолізу та значеннями таких показників, як медіана розподілу і коефіцієнт варіації. Зменшення значення медіани розподілу клітин зазвичай супроводжується підвищенням чутливості еритроцитів ссавців до постгіпертонічного шоку. Винятком є еритроцити щура, для яких отримані значення медіани у досліджуваному концентраційному ряді NaCl мають мінімум за 1,5 моль/л. Що стосується коефіцієнту варіації, то вищі значення цього параметра характерні для еритроцитів ссавців, котрі є стійкими до дії постгіпертонічного шоку.

Отже, залучаючи різнопланові модельні дослідження, можна краще зрозуміти процеси, які відбува-

ються у реальних умовах, і розробити удосконалення до протоколів кріоконсервування клітин.

## Перспективи подальших досліджень

У подальших дослідженнях планується використовувати цитометричний аналіз для оцінки стану клітин в умовах замороження-відтавання та модельних експериментів на зразок постгіпертонічного шоку із залученням флуоресцентних міток, які зв'язуються з фосфатидилсерином, для оцінки стану мембрани еритроцитів ссавців.

- Adan A, Alizada G, Kiraz Y, Baran Y, Nalbant A Flow cytometry: basic principles and applications. *Critic. Rev. Biotechnol.* 2017; 37 (2): 163–176. DOI: 10.3109/07388551.2015.1128876.
- Ameri M, Schnaars HA, Sibley JR, Honor DJ. Stability of hematologic analytes in monkey, rabbit, rat, and mouse blood stored at 4°C in EDTA using the ADVIA 120 hematology analyzer. *Vet. Clin. Pathol.* 2011; 40 (2): 188–193. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2011.00304.x.
- Betticher DC, Geiser J. Resistance of mammalian red blood cells of different size to hypertonic milieu. *Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol.* 1989; 93 (2): 429–432. DOI: 10.1016/0300-9629(89)90061-3.
- Bojic S, Murray A, Bentley BL, Spindler R, Pawlik P, Cordeiro JL, Bauer R, de Magalhães JP. Winter is coming: the future of cryopreservation. *BMC Biol.* 2021;19 (1): 56. DOI: 10.1186/s12915-021-00976-8.
- García JM, Ardila AM. Cell volume variation under different concentrations of saline solution (NaCl). *Rev. Colomb. Anestesiol.* 2009; 37 (2): 101–105. DOI: 10.1016/S0120-3347(09)72002-7.



6. Ghosh S, Chakraborty I, Chakraborty M, Mukhopadhyay A, Mishra R, Sarkar D. Evaluating the morphology of erythrocyte population: An approach based on atomic force microscopy and flow cytometry. *Biochim. Biophys. Acta*. 2016; 1858 (4): 671–681. DOI: 10.1016/j.bbame.2016.01.021.
7. Gienger J, Gross H, Ost V, Bär M, Neukammer J. Assessment of deformation of human red blood cells in flow cytometry: measurement and simulation of bimodal forward scatter distributions. *Biomed. Opt. Exp.* 2019; 10 (9): 4531–4550. DOI: 10.1364/BOE.10.004531.
8. Gorey A, Biswas D, Kumari A, Gupta S, Sharma N, Chen GCK, Vasudevan S. Application of continuous-wave photoacoustic sensing to red blood cell morphology. *Laser. Med. Sci.* 2019; 34: 487–494. DOI: 10.1007/s10103-018-2621-7.
9. Lahmann JM, Benson JD, Higgins AZ. Concentration dependence of the cell membrane permeability to cryoprotectant and water and implications for design of methods for post-thaw washing of human erythrocytes. *Cryobiol.* 2018; 80: 1–11. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2017.12.003.
10. Mishra Ragh, Sarkar D, Bhattacharya S, Mallick S, Chakraborty M, Mukherjee D, Kar M, Mishra Rosh. Quantifying morphological alteration of RBC population from light scattering data. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2015; 59 (4): 287–300. DOI: 10.3233/CH-131726.
11. Muldrew K. The salting-in hypothesis of post-hypertonic lysis. *Cryobiol.* 2008; 57 (3): 251–256. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2008.09.007.
12. Nemeth N, Sogor V, Kiss F, Ulker P. Interspecies diversity of erythrocyte mechanical stability at various combinations in magnitude and duration of shear stress, and osmolality. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2016; 63 (4): 381–398. DOI: 10.3233/CH-152031.
13. Piagnerelli M, Zouaoui Boudjeltia K, Brohee D, Vereerstraeten A, Piro P, Vincent JL, Vanhaeverbeek M. Assessment of erythrocyte shape by flow cytometry techniques. *J. Clin. Pathol.* 2007; 60 (5): 549–554. DOI: 10.1136/jcp.2006.037523.
14. Semionova KA, Nipot OE, Yershova NA, Shapkina OO, Shpakova NM. Temperature, osmolality, and glucose determine the erythrocyte resistance to post-hypertonic stress. *Rep. Nat. Acad. Sci. Ukr.* 2020; 4: 99–106. DOI: 10.15407/dopovid2020.04.099. (in Ukrainian)
15. Semionova KA, Yershova NA, Yershov SS, Orlova NV, Shpakova NM. Peculiarities of posthypertonic lysis in erythrocytes of several mammals. *Probl. Cryobiol. Cryomed.* 2016; 26 (1): 73–83. DOI: 10.15407/cryo26.01.073. (in Russian)
16. Yamamoto A, Saito N, Yamauchi Y, Takeda M, Ueki S, Itoga M, Kojima K, Kayaba H. Flow cytometric analysis of red blood cell osmotic fragility. *J. Lab. Automat.* 2014; 19 (5): 483–487. DOI: 10.1177/2211068214532254.
17. Zemlyanskykh NG, Kovalenko IF, Babichuk LA. Peculiarities of modifications in geometric parameters and changes in osmotic fragility of human erythrocytes following their exposure in sucrose and PEG-1500 solutions. *Probl. Cryobiol. Cryomed.* 2017; 27 (4): 296–310. DOI: 10.15407/cryo27.04.296. (in Russian)

## The role of the dehydration stage in the post-hypertonic hemolysis of mammalian erythrocytes

O. E. Nipot, O. O. Shapkina, P. M. Zubov, N. V. Orlova, N. M. Shpakova  
nipotel71@gmail.com

Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine NAS of Ukraine,  
23 Pereyaslavska str., Kharkiv, 61016, Ukraine, cryo@online.kharkov.ua

The aim of this study was to assess the level of damage to mammalian erythrocytes under post-hypertonic shock depending on the concentration of NaCl in the dehydration medium and to determine the effect of hypertonic NaCl solutions on the condition of mammalian erythrocytes by flow cytometry. To achieve this goal, spectrophotometric and cytometry research methods were used. The data obtained showed that post-hypertonic lysis of mammalian erythrocytes depends on the concentration of NaCl in the dehydration medium. The most sensitive to the effects of post-hypertonic shock are rat erythrocytes, the least sensitive are rabbit cells. Cytometry studies revealed significant changes in the histograms of the distribution of erythrocytes of all mammalian species with increasing salt concentration in the dehydration medium. These changes are species-specific and are probably related to changes in cell volume and morphology. The data revealed a relationship between the level of post-hypertonic hemolysis and the values of such indicators as the median distribution and the coefficient of variation. Thus, an increase in the sensitivity of mammalian erythrocytes to post-hypertonic shock with increasing salt concentration in dehydration medium was usually accompanied by a decrease in the median cell division, and higher values of the coefficient of variation are characteristic of mammalian erythrocytes resistant to post-hypertonic shock.

**Key words:** mammalian erythrocytes, dehydration, post-hypertonic shock, cytometry, median, coefficient of variation, distribution



## Вплив шишок хмелю і вітаміну Е на кетогенез та антиоксидантний статус корів

С. Р. Сачко<sup>1</sup>, І. В. Вудмаска<sup>1</sup>, І. В. Невоструєва<sup>1</sup>, Р. Г. Сачко<sup>1</sup>, А. П. Петрук<sup>2</sup>

ivvudmaska@gmail.com

<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН,  
вул. Василя Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького,  
вул. Пекарська 50, м. Львів, 79010, Україна

Мета роботи — корекція ферментаційних процесів у рубці корів у перед- та післяотельний періоди для запобігання порушенням обміну речовин та профілактики кетозу. Для дослідження сформовано 2 групи корів української молочної чорно-рябої породи із продуктивністю 6–7 тис. кг молока за попередню лактацію, по 10 тварин у групі. Тривалість дослідження: останні три тижні сухостою — перші три тижні лактації. Тварини отримували збалансований за поживними і біологічно активними речовинами раціон, до складу якого входили: сінаж, кукурудзяний силос, дерть ячмінна, дерть пшенична, дерть кукурудзяна, шрот соєвий, сіль, мінерально-вітамінний премікс. Перша група — контрольна. До раціону корів другої групи додавали 300 мг  $\alpha$ -токоферолу ацетату (0,6 г *Ровімікс Е-50*) та 1 г/кг сухих шишок хмелю на кг сухої речовини раціону. У крові корів до отелення досліджувана кормова добавка знижувала концентрацію продуктів пероксидного окиснення ( $P < 0,05$ ), не впливаючи на інші показники. Після отелення виявлено суттєві зміни. У крові корів дослідної групи виявлено зниження концентрації гідропериксидів ліпідів ( $P < 0,05$ ), ТБАП ( $P < 0,05$ ), бета-гідроксибутирату ( $P < 0,05$ ). Отже, введення до раціону корів протягом транзитного періоду 300 мг  $\alpha$ -токоферолу ацетату та 1 г/кг сухих шишок хмелю на кг сухої речовини раціону пригнічує процеси пероксидного окиснення та знижує концентрацію кетонових тіл у крові. Вказана кормова добавка може бути використана для профілактики кетозу та стеатозу корів.

**Ключові слова:** корови, шишки хмелю, вітамін Е, кров, кетонові тіла, пероксидне окиснення

В отельний період у корів спостерігається негативний енергетичний баланс, що проявляється дефіцитом глюкози та надмірним вивільненням жирних кислот з жирової тканини [15]. Додатковим чинником, який посилює негативні наслідки цих процесів, є порушена функція печінки, відповідальної за синтез глюкози і трансформацію вільних жирних кислот у триацилгліцероли.

В оцінці метаболічного стану корів у транзитний період основну увагу приділяють порушенням вуглеводно-ліпідного обміну та оксидативному стресу [9]. Поза увагою залишається такий важливий аспект, як інтоксикація аміаком, який є одним з провідних чинників порушення функції печінки [3]. Раціон високопродуктивних корів містить велику кількість протеїнових кормів, внаслідок чого зростає утворення аміаку, що створює додаткове навантаження на печінку,

провокує патологію паренхіми і знижує її функціональну здатність. Таким чином, для крові корів у післяотельний період характерне зниження концентрації глюкози та збільшення концентрації НЕЖК, аміаку і кетонових тіл [15]. Ці особливості метаболізму природні для корів, проте у високопродуктивних тварин прояв цих змін настільки інтенсивний, що часто призводить до патологічних порушень обміну речовин, зокрема кетозу і жирового переродження печінки. Частково вони можуть бути нівельовані коригуванням раціону, проте необхідне введення до раціону спеціальних кормових добавок [9].

Для зниження інтенсивності катаболізму протеїну до аміаку, зменшення утворення лактату і збільшення утворення пропіонату в рубці можна застосовувати антибіотики-іонофори, переважно монензин, які вибірково діють на грампозитивні бактерії, до яких нале-

жать гіперпродуценти аміаку та молочнокислі бактерії. Додавання до раціону транзитних корів монензину сприяє зростанню концентрації глюкози і зниженню концентрації кетонів у крові [2, 8]. Проте останніми роками у світі спостерігається тенденція до зменшення використання антибіотиків у тваринництві. Замінником монензину може стати насіння хмелю, яке містить пренільовані поліфеноли —  $\alpha$ - та  $\beta$ -кислоти та їхні ізомери, за іонофорною дією подібні до монензину [3, 5, 6, 10, 14]. Крім того, феноли та ефірні олії шишок хмелю мають антиоксидантні [1, 4, 6, 7, 11] та гепатопротекторні [6, 13] властивості.

Застосування іонофорів для корекції обміну речовин у корів має небажаний ефект — знижене утворення ацетату в рубці внаслідок часткового пригнічення активності целюлозолітичних бактерій. На сьогодні відомо, що вітамін Е стимулює життєдіяльність целюлозолітичних бактерій за введення його у раціон корів у підвищених дозах [12]. Таким чином, спільне додавання до раціону шишок хмелю і вітаміну Е може проявляти ефективнішу дію на травні процеси та обмін речовин.

## Матеріали і методи

Для дослідження сформовано 2 групи корів української молочної чорно-рябої породи, молочна продуктивність за попередню лактацію 6–7 тис. кг, по 10 тварин у групі. Тварини отримували типовий збалансований за поживними і біологічно активними речовинами раціон, до складу якого входили: сінаж, кукурудзяний силос, дерть ячмінна, дерть пшенична, дерть кукурудзяна, шрот соєвий, сіль, мінерально-вітамінний премікс. Корови першої групи слугували контролем. До раціону корів другої групи додавали з розрахунку на кг сухої речовини по 0,3 г  $\alpha$ -токоферолу ацетату (0,6 г *Ровімікс Е-50*) та по 1 г сухих шишок хмелю. Дослід тривав протягом транзитного періоду (3 тижні перед і 3 тижні після отелення).

Для лабораторних досліджень брали венозну кров перед отеленням, через тиждень і через місяць після отелення. У крові визначали вміст кетонів тіл (ацетоацетат, гідроксибутират) йодометричним методом, концентрацію продуктів перекисного окиснення (гідропероксиди ліпідів, дієнові кон'юганти ліпідів, ТБК-АП) згідно з методами, викладеними у довіднику «Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині» [13]. Отримані результати опрацьовували статистично з використанням програми *Microsoft Excel*.

## Результати й обговорення

Через тиждень після отелення концентрація глюкози у плазмі крові корів контрольної групи знижувалась, а концентрація неестерифікованих жирних зростала

порівняно з сухостійним періодом. У корів дослідної групи концентрація глюкози була на 22% більшою, а концентрація НЕЖК — на 21% меншою порівняно з контрольною групою ( $P<0,05$ ), кількісно вони наближались до вмісту глюкози та НЕЖК у плазмі крові корів за тиждень до і через місяць після отелення.

Встановлено зниження концентрації кетонів тіл у крові корів під впливом згодовування їм кормової добавки шишок хмелю і вітаміну Е. Особливо суттєвими були зміни вказаного параметру крові через тиждень після отелення (табл. 1).

Наприкінці першого тижня лактації спостерігалось статистично вірогідне зменшення вмісту  $\beta$ -гідроксибутирату ( $P<0,05$ ), а з урахуванням помірного зниження концентрації ацетоацетату в крові корів цієї групи різниця у кількості кетонів тіл була ще суттєвішою ( $P<0,01$ ).

**Таблиця 1.** Кетонів тіла у крові, ммоль/л ( $M\pm m$ ,  $n=10$ )  
**Table 1.** Ketone bodies in the blood, mmol/l ( $M\pm m$ ,  $n=10$ )

Показники / Parameters	Групи тварин Groups of animals	
	Контроль Control	Дослід Experiment
До отелення / Before calving		
Ацетоацетат Acetoacetate	0,31 $\pm$ 0,05	0,32 $\pm$ 0,06
$\beta$ -Гідроксибутират $\beta$ -Hydroxybutyrate	0,60 $\pm$ 0,08	0,50 $\pm$ 0,06
Сума кетонів тіл The sum of ketone bodies	0,90 $\pm$ 0,12	0,82 $\pm$ 0,04
Ацетоацетат / $\beta$ -гідроксибутират Acetoacetate / $\beta$ -hydroxybutyrate	0,52 $\pm$ 0,03	0,72 $\pm$ 0,22
Тиждень після отелення / One week after calving		
Ацетоацетат Acetoacetate	0,50 $\pm$ 0,06	0,43 $\pm$ 0,04
$\beta$ -Гідроксибутират $\beta$ -Hydroxybutyrate	1,31 $\pm$ 0,13	0,80 $\pm$ 0,09*
Сума кетонів тіл The sum of ketone bodies	1,81 $\pm$ 0,11	1,23 $\pm$ 0,12**
Ацетоацетат / $\beta$ -гідроксибутират Acetoacetate / $\beta$ -hydroxybutyrate	0,38 $\pm$ 0,03	0,55 $\pm$ 0,06*
Місяць після отелення / One month after calving		
Ацетоацетат Acetoacetate	0,41 $\pm$ 0,05	0,32 $\pm$ 0,06
$\beta$ -Гідроксибутират $\beta$ -Hydroxybutyrate	0,99 $\pm$ 0,03	0,86 $\pm$ 0,09
Сума кетонів тіл The sum of ketone bodies	1,40 $\pm$ 0,07	1,19 $\pm$ 0,04*
Ацетоацетат / $\beta$ -гідроксибутират Acetoacetate / $\beta$ -hydroxybutyrate	0,41 $\pm$ 0,04	0,37 $\pm$ 0,03

Примітка. \* — статистична вірогідність: \* —  $P<0,05$ ;

\*\* —  $P<0,01$ ; \*\*\* —  $P<0,001$ .

Note. \* — statistical significance: \* —  $P<0,05$ ; \*\* —  $P<0,01$ ;

\*\*\* —  $P<0,001$ .

Вплив шишок хмелю і вітаміну Е на кетогенез корів у періоді до лактації та через місяць після неї виражений менше, хоча тенденції до зниження концентрації кетонів у крові тварин дослідної групи зберігаються. Так, за тиждень до лактації виявлено помірне зменшення вмісту  $\beta$ -гідроксибутирату за незмінної кількості ацетоацетату. Через місяць після отелення дещо зменшувалась концентрація у крові як  $\beta$ -гідроксибутирату, так і ацетоацетату, внаслідок чого зниження сумарної концентрації кетонів у крові було статистично вірогідним ( $P < 0,05$ ).

Концентрація продуктів пероксидного окиснення у плазмі крові корів обох груп зростала після отелення порівняно з сухостійним періодом. Через місяць після отелення концентрація продуктів пероксидного окиснення у плазмі крові корів дещо знижувалась, проте все одно була більшою, ніж за сухостою. Це можна пояснити отельним стресом та вищою напруженістю метаболічних процесів під час лактації (табл. 2).

Отже, встановлено вплив досліджуваної кормової добавки на вміст продуктів пероксидного окиснення у крові корів. Це закономірно, оскільки обидва компоненти, супліддя хмелю та токоферол, проявляють антиоксидантні властивості. Практично усі досліджувані

показники пероксидного окиснення знижувались за згодовування кормової добавки, хоча не завжди статистично вірогідні. Важливо, що вплив добавки зберігся й через місяць після лактації, коли згодовування добавки вже припинили. Це може бути пов'язане з дією вітаміну Е, який додавали коровам у більшій за рекомендовані норми кількості. Вітамін Е депонується в організмі тварин, тому його дія тривала далі.

## Висновки

1. Концентрація кетонів у крові і продуктів перекисного окиснення різко зросла після отелення. Через місяць їхня концентрація дещо знизилася, але все ще була вищою, ніж у сухостійних корів.

2. Додавання шишок хмелю та вітаміну Е гальмує перекисне окиснення і зменшує концентрацію кетонів у крові корів.

3. Шишки хмелю і токоферолу ацетат можуть бути використані як складники кормових добавок для профілактики кетозу та жирового переродження печінки високопродуктивних корів.

## Перспективи подальших досліджень

Шишки хмелю містять низку сильнодіючих біологічно активних речовин. Необхідно зосередити увагу на вивченні дії хумулону як основного антимікробного чинника.

**Таблиця 2.** Концентрація продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові, мкмоль/л ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

**Table 2.** Concentration of lipid peroxidation products in blood plasma,  $\mu\text{mol/L}$  ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показники / Parameters	Групи тварин Groups of animals	
	Контроль Control	Дослід Experiment
До отелення / Before calving		
Гідроперекиси ліпідів Lipid hydroperoxides	2,19 $\pm$ 0,22	1,62 $\pm$ 0,11*
ТБК-АП TBARS	3,09 $\pm$ 0,22	2,11 $\pm$ 0,25*
Дієнові кон'юганти Diene conjugates	4,93 $\pm$ 0,38	4,20 $\pm$ 0,31
Тиждень після отелення / One week after calving		
Гідроперекиси ліпідів Lipid hydroperoxides	3,51 $\pm$ 0,32	2,81 $\pm$ 0,23
ТБК-АП TBARS	4,40 $\pm$ 0,20	3,56 $\pm$ 0,31*
Дієнові кон'юганти Diene conjugates	8,21 $\pm$ 0,53	5,55 $\pm$ 0,65**
Місяць після отелення / One month after calving		
Гідроперекиси ліпідів Lipid hydroperoxides	3,27 $\pm$ 0,20	2,99 $\pm$ 0,66
ТБК-АП TBARS	3,49 $\pm$ 0,22	3,25 $\pm$ 0,21
Дієнові кон'юганти Diene conjugates	5,67 $\pm$ 0,23	4,83 $\pm$ 0,27*

- Behr J, Vogel RF. Mechanisms of hop inhibition include the transmembrane redox reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76 (1): 142–149. DOI: 10.1128/AEM.01693-09.
- Compton CW, Young L, McDougall S. Efficacy of controlled-release capsules containing monensin for the prevention of subclinical ketosis in pasture-fed dairy cows. *New Zeal. Vet. J.* 2015; 63 (5): 249–253. DOI: 10.1080/00480169.2014.999842.
- Flythe MD. The antimicrobial effects of hops (*Humulus lupulus* L.) on ruminal hyper ammonia-producing bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 2009; 48 (6): 712–717. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2009.02600.x.
- Hartkom A, Hoffmann F, Ajamieh H, Vogel S, Heilmann J, Gerbes AL, Vollmar AM, Zahler S. Antioxidant effects of xanthohumol and functional impact on hepatic ischemia-reperfusion injury. *J. Nat. Prod.* 2009; 72 (10): 1741–1747. DOI: 10.1021/np900230p.
- Hop acids as a replacement for antibiotics in animal feed. Patent no. US8197863B2. Date of Patent: 12.06.2012. Available at: <https://patents.google.com/patent/US8197863B2/en>
- Karabín M, Hudcová T, Jelínek L, Dostálek P. Biologically active compounds from hops and prospects for their use. *Comprehens. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2016; 15 (3): 542–567. DOI: 10.1111/1541-4337.12201.
- Krofta K, Mikyška A, Hašková D. Antioxidant characteristics of hops and hop products. *J. Inst. Brew.* 2008; 114 (2): 160–166. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2008.tb00321.x>
- Markantonatos X, Varga GA. Effects of monensin on glucose metabolism in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2017; 100 (11): 9020–9035. DOI: 10.3168/jds.2016-12007.
- McGuffey RK. A 100-year review: Metabolic modifiers in dairy cattle nutrition. *J. Dairy Sci.* 2017; 100 (12): 10113–10142. DOI: 10.3168/jds.2017-12987.

10. Narvaez N, Wang Y, Xu Z, McAllister T. Effects of hops on *in vitro* ruminal fermentation of diets varying in forage content. *Livestock Sci.* 2011; 138 (1–3): 193–201. DOI: 10.1016/j.livsci.2010.12.028.
11. Olas B, Kolodziejczyk J, Wachowicz B, Jędrejek D, Stochmal A, Oleszek W. The extract from hop cones (*Humulus lupulus*) as a modulator of oxidative stress in blood platelets. *Platelets.* 2011; 22 (5): 345–352. DOI: 10.3109/09537104.2010.549597.
12. Politis I. Reevaluation of vitamin E supplementation of dairy cows: bioavailability, animal health and milk quality. *Animal.* 2012; 6 (9): 1427–1434. DOI: 10.1017/S1751731112000225.
13. Vlizlo VV, Fedoruk RS, Ratych IB. *Laboratory methods of research in biology, animal husbandry and veterinary medicine.* A reference book. Lviv, Spolom. 2012; 764 p. (in Ukrainian)
14. Vudmaska I, Petruk A, Vaskiv R, Vlizlo V. Comparison of monensin and hop cones effects on rumen fermentation and blood parameters in transition dairy cows. *XVIII Middle-European Buiatrics Congress. Hung. Vet. J.* 2018; 140 (S1): 299–304.
15. Wankhade PR, Manimaran A, Kumaresan A, Jeyakumar S, Ramesha KP, Sejian V, Rajendran D, Varghese MR. Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. *Vet. World.* 2017; 10 (11): 1367–1377. DOI: 10.14202/vetworld.2017.1367-1377.
16. Weiskirchen R, Mahli A, Weiskirchen S, Hellerbrand C. The hop constituent xanthohumol exhibits hepatoprotective effects and inhibits the activation of hepatic stellate cells at different levels. *Front. Physiol.* 2015; 6: 140. DOI: 10.3389/fphys.2015.00140.

## Effect of hop cones and vitamin E on ketogenesis and antioxidant status in transition dairy cows

S. R. Sachko<sup>1</sup>, I. V. Vudmaska<sup>1</sup>, I. V. Nevostruyeva<sup>1</sup>, R. G. Sachko<sup>1</sup>, A. P. Petruk<sup>2</sup>  
ivvudmaska@gmail.com

<sup>1</sup>Institute of Animal Biology NAAS,  
38 V. Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

<sup>2</sup>Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv,  
50 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

The purpose of the work was the correction rumen fermentation in the transition cows to prevent metabolic disorders. For the experiment, two groups of Ukrainian dairy black-and-white breed cows were formed, 10 animals per group. The experiment lasted 3 weeks *prepartum* and 3 weeks *postpartum*. Animals received a balanced diet, which consisted of haylage, silage, barley, wheat, corn, soybean meal, salt, mineral and vitamin premix. The first group was the control. To the diet of second group 300 mg of  $\alpha$ -tocopherol acetate (0.6 g of *Rovimix E-50*) and 1 g/kg of dry hop cones per kg of dry matter was added. Before calving, the tested feed additive reduced the concentration of peroxide oxidation products in the cows blood ( $P < 0.05$ ) without affecting other parameters. Changes that are more significant detected after calving. A decrease in the concentration of lipid hydroperoxides ( $P < 0.05$ ), TBARS ( $P < 0.05$ ), and beta-hydroxybutyrate ( $P < 0.05$ ) were observed in the blood of the cows of the experimental group. Therefore, the addition into diet of transition cows of  $\alpha$ -tocopherol and hop cones inhibits the lipid peroxidation and reduces the ketones formation. So, this feed supplement can be used to prevent ketosis and steatosis in cows.

**Key words:** cows, hop cones, vitamin E, blood, ketone bodies, peroxidation





## Особливості впливу екстракту вівса посівного на антиоксидантну активність печінки гусей

Ю. В. Ніколаєва<sup>1</sup>, О. О. Данченко<sup>2</sup>

nndea@ukr.net

<sup>1</sup>Мелітопольський державний педагогічний університет імені Богдана Хмельницького, вул. Гетьманська, 20, м. Мелітополь, Запорізька обл., 72312, Україна

<sup>2</sup>Таврійський державний агротехнологічний університет імені Дмитра Моторного, просп. Б. Хмельницького, 18, м. Мелітополь, Запорізька обл., 72312, Україна

Застосування антиоксидантів у годівлі птиці сприяє послабленню стресів різної етіології. Природні антиоксиданти мають низку переваг над синтетичними. Метою роботи було з'ясувати вплив екстракту вівса посівного *Avena sativa* на особливості функціонування антиоксидантної системи печінки гусей під час фізіологічної напруги формування контурного і ювенального пір'я (з 14- до 56-ї доби). Стан антиоксидантної системи в тканинах печінки визначали за коефіцієнтом антиоксидантної активності, вмістом кінцевих продуктів ліпопероксидації, активністю антиоксидантних ензимів та вмістом жиророзчинних вітамінів. За результатами проведеного експерименту доведено, що в гусенят контрольної групи під час формування контурного пір'я відбувається зниження антиоксидантної активності печінки у 2,36 раза, а ювенального — в 1,9 раза порівняно з вихідним значенням. Додавання екстракту вівса до раціону гусей під час формування пір'я підвищує антиоксидантну активність їхньої печінки. Під впливом екстракту фізіологічна напруга, пов'язана з формуванням контурного пір'я (28-а доба), суттєво послаблюється завдяки зменшенню вмісту головного субстрату ліпопероксидації ненасичених жирних кислот попри зниження активності усіх антиоксидантних ензимів. Підвищення антиоксидантної активності у печінці під час формування ювенального пір'я відбувається завдяки залученню альтернативних механізмів антиоксидантного захисту, які реалізуються збільшенням активності ендогенних антиоксидантів: супероксиддисмутази на 29,6% ( $P \leq 0,05$ ), каталази на 34,6% ( $P \leq 0,05$ ), глутатіопероксидази на 41,2% ( $P \leq 0,01$ ), а також вмісту вітаміну Е на 32,7% ( $P \leq 0,05$ ) і  $\beta$ -каротину на 30,9% ( $P \leq 0,05$ ). Під впливом екстракту відбувається не тільки вірогідне підвищення маси гусей наприкінці досліду, але й покращення їхніх птерилографічних показників. Тому надалі доцільно було б провести аналогічні дослідження на диких видах птахів у дичинорозплідниках, оскільки процес формування пір'я саме для цих птахів має принципове значення.

**Ключові слова:** антиоксидантна активність, продукти ліпопероксидації, ензими, вітаміни, печінка, фізіологічна напруга, формування пір'я, птерилографічні показники

Використання антиоксидантів у годівлі птиці допомагає усунути шкідливий вплив негативних факторів різної етіології. Застосування природних антиоксидантних домішок в годівлі птиці має низку переваг над традиційними синтетичними добавками. Сьогодні увагу науковців з багатьох країн світу привертає унікальність комплексу біологічно активних сполук, які входять до складу вівса (*Avena sativa*) [2, 21]. І на це є вагомі підстави. Серед відомих фенольних сполук в останні роки особливого значення набувають знайдені поки що тільки у складі вівса сполуки широ-

кого спектру біохімічної дії — авенантраміди [11, 15]. Авенантраміди є поліфункціональними сполуками, що зумовлено присутністю в їхніх молекулах, окрім фенольної гідроксогрупи, також аміно- і карбоксильної груп. Наявність єдиного електронного ланцюга бензольних ядер і подвійних зв'язків у молекулах авенантрамідів визначає надзвичайно високу термодинамічну стабільність їхніх радикалів. Доведено, що антиоксидантна активність цих сполук у 10–30 разів вища, ніж у відомих біофлавоноїдів [13, 14, 16, 18].

Жирні кислоти є основними компонентами клітинних мембран. Вони відіграють ключову роль в енергетичному гомеостазі і беруть участь в антиоксидантній відповіді тканин. Відомо, що за дії природних флавоноїдів відбувається інгібування синтази жирних кислот — мультиензимного комплексу, який каталізує синтез жирних кислот *de novo* [19, 20, 23] та інших ензимів ліпідного обміну. Це може призвести до зниження ненасиченості ліпідів і, як наслідок, підвищення резистентності тканин до дії вільних радикалів.

У роботі [8] оприлюднено особливості змін жирнокислотного складу в тканинах мозку, печінки і скелетних м'язів гусей за дії екстракту вівса посівного. Встановлено аномальні коливання жирнокислотного складу ліпідів цих тканин під час фізіологічної напруги формування пір'я. Втім, механізми підтримки прооксидантно-антиоксидантної рівноваги визначаються не тільки морфологічними особливостями тканин, але й періодами онтогенезу птиці.

Тому **метою цієї роботи** було з'ясування впливу екстракту вівса посівного *Avena sativa* на особливості функціонування антиоксидантної системи печінки гусей під час фізіологічної напруги формування контурного і ювенального пір'я.

## Матеріали і методи

Дослідження проводили на гусах данської породи Легарт. Птиця цієї породи має високі смакові і поживні показники м'яса з низьким рівнем жиру, а також якісний і дорогий пух. Ці гуси відрізняються високим рівнем засвоєння поживних речовин за використання меншої кількості зернового корму порівняно з класичними породами гусей. Основна маса жирових відкладень гусей породи Легарт розташована під шкірним покривом і не змішується з м'ясними волокнами [9].

У 14-добовому віці за принципом аналогів було сформовано 2 групи гусенят — контрольну і дослідну, по 26 особин у кожній. Впродовж усього досліді птицю контрольної групи утримували на стандартному раціоні, збалансованому за обмінною енергією, протеїном і вітамінами згідно з рекомендаціями [3].

Гусенят дослідної групи впродовж досліді до стандартного раціону додавали екстракт вівса (непримусове вицювання). Для екстракції фенольних сполук використовували надземну частину вівса посівного *Avena sativa* у фазі колосіння і цвітіння. Вилучення флавоноїдів з вихідної сировини проводили водою у співвідношенні маси вівса і води 3:10. Забій гусей і відбір біологічного матеріалу для біохімічних досліджень проводили з дотриманням норм конвенції Ради Європи щодо захисту тварин, які використовуються в наукових дослідженнях (Страсбург, 1986) та I наукового конгресу України з біоетики (вересень 2001).

Визначення антиоксидантної активності тканин печінки здійснювали у фізіологічно обґрунтовані терміни: 14-а доба — завершення постнатальної адаптації,

28-а і 49-а — формування контурного і ювенального пір'я відповідно, 56-а доба — наявність сформованого оперення, стабілізація прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.

Інтенсивність процесів пероксидного окиснення (ПОЛ) оцінювали за вмістом його кінцевих продуктів в гомогенатах тканин (ТВКАП<sub>вих</sub>) та за ініціації ПОЛ Fe<sup>2+</sup> (ТВКАП<sub>інк</sub>) [10].

Як інтегральний показник стану системи антиоксидантного захисту (АОЗ) використовували коефіцієнт антиоксидантної активності (K<sub>АОА</sub>). Його рахували як відношення ТВКАП<sub>вих</sub> до ТВКАП<sub>інк</sub>, оскільки в гомогенатах тканин міститься не тільки субстрат пероксидації, а й компоненти системи АОЗ, здатні гальмувати пероксидацію ліпідів [6]. Окрім того, у відібраному біоматеріалі визначали вміст ліпідів, активність антиоксидантних ензимів супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ) і глутатіонпероксидази (ГПО) та вміст жиророзчинних вітамінів (Е, А і β-каротину) [10]. Паралельно контролювали динаміку живої маси гусей та їхні птерилографічні показники. Статистичну обробку отриманих результатів проводили із застосуванням пакету програм *Microsoft Office Excel 2013* та *SPSS v. 13* з *t*-критерієм Стьюдента [12, 17].

## Результати й обговорення

Формування адаптивної відповіді на умови постнатального існування впродовж перших двох тижнів життя гусенят супроводжується підвищенням антиоксидантного статусу їхнього організму. Результати проведеного експерименту підтверджують, що в межах дослідженого проміжку онтогенезу нижчий вміст кінцевих продуктів ліпопероксидації і найвищий K<sub>АОА</sub> саме у печінці 14-добових гусенят (табл. 1).

З 14-ї до 28-ї доби відбувалось формування контурного пір'я і в печінці гусенят контрольної групи спостерігали збільшення вмісту ТВКАП<sub>вих</sub> на 55,3%, а K<sub>АОА</sub> при цьому зменшилось у 2,36 раза. Водночас у 28-добових гусенят дослідної групи за дії екстракту вівса вміст продуктів ПОЛ утримувався на сталому рівні, а K<sub>АОА</sub> перевищив відповідний показник контрольної групи на 48,0% (P≤0,01). З 28-ї до 49-ї доби вірогідне зростання вмісту ТВКАП<sub>вих</sub> встановлено в печінці дослідної групи гусей на 34% (P≤0,01, в контрольній групі на рівні тенденції), але ТВКАП<sub>інк</sub> контрольної групи на 34,7% (P≤0,05) вищий за цей показник дослідної, і K<sub>АОА</sub> на 35,5% (P≤0,05) вищий у дослідної групи гусей. Відновлення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в 56-добових гусей супроводжувалось зниженням вмісту ТВКАП<sub>вих</sub> і ТВКАП<sub>інк</sub> в печінці гусей обох груп, при цьому зберігалась вірогідна різниця K<sub>АОА</sub> на 26,2% (P≤0,05).

За середнім рівнем впродовж досліді K<sub>АОА</sub> дослідної групи гусей перевищив відповідний контрольний показник на 21,6% (P≤0,05) і водночас стабілізувався — коефіцієнт варіації K<sub>АОА</sub> дослідної групи на 44,7% (P≤0,01) нижчий за контроль.

**Таблиця 1.** Вміст ліпідів, продуктів ліпопероксидації і коефіцієнт антиоксидантної активності в печінці гусей ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )  
**Table 1.** The content of lipids, lipoperoxidation products and the coefficient of antioxidant activity in the geese liver ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Вік, доба, Age, day	Група Group	ТБАКПвих, нМоль/г TBAAPorig nMol/g	ТБАКПінк, нМоль/г TBAAPinit, nMol/g	Ліпіди, мг/г Lipids, mg/g	$K_{AOA}$
14	Контрольна / Control	54,8 $\pm$ 3,8	93,1 $\pm$ 3,7	22,7 $\pm$ 1,1	0,59 $\pm$ 0,03
	Дослідна / Experiment	54,8 $\pm$ 3,4	93,1 $\pm$ 3,9	23,4 $\pm$ 1,0	0,59 $\pm$ 0,02
28	Контрольна / Control	85,1 $\pm$ 3,2	340,3 $\pm$ 10,3	15,1 $\pm$ 0,5	0,25 $\pm$ 0,00
	Дослідна / Experiment	61,7 $\pm$ 2,8*	166,8 $\pm$ 7,3**	14,8 $\pm$ 0,4	0,37 $\pm$ 0,03**
49	Контрольна / Control	93,5 $\pm$ 4,7	301,6 $\pm$ 14,2	13,9 $\pm$ 0,6	0,31 $\pm$ 0,01
	Дослідна / Experiment	82,7 $\pm$ 3,8	196,9 $\pm$ 8,7**	12,8 $\pm$ 0,5	0,42 $\pm$ 0,02**
56	Контрольна / Control	69,3 $\pm$ 3,1	165,1 $\pm$ 7,1	11,0 $\pm$ 0,4	0,42 $\pm$ 0,02
	Дослідна / Experiment	55,7 $\pm$ 2,6**	105,3 $\pm$ 4,8**	10,7 $\pm$ 0,5	0,53 $\pm$ 0,01**

Примітка. Тут і в далі різниця вірогідна порівняно з контролем: \* —  $P \leq 0,05$ ; \*\* —  $P \leq 0,01$ .

Note. Here and further, the difference is significant compared to the control: \* —  $P \leq 0,05$ ; \*\* —  $P \leq 0,01$ .

**Таблиця 2.** Активність ензимів і вміст вітамінів у печінці гусей ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )  
**Table 2.** Enzyme activity and vitamin content in geese liver ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Вік, доба, Age, day	Група Group	Активність ензимів Enzyme activity			Вміст вітамінів, мкг/г Vitamin content, $\mu$ g/g		
		СОД, ум.од./г(хв·г) SOD, conv. un./g(min·g)	КАТ · 10–5, нкат/г CAT · 10–5, nkat/g	ГПО · 104, мкМоль/(хв·г) GPO · 104, mMol/(min·g)	A	E	$\beta$ -каротин $\beta$ -carotene
14	Контрольна / Control	14,29 $\pm$ 0,57	27,54 $\pm$ 1,23	5,83 $\pm$ 0,24	4,95 $\pm$ 0,23	13,49 $\pm$ 0,61	10,73 $\pm$ 0,39
	Дослідна / Experiment	12,97 $\pm$ 0,49	26,29 $\pm$ 1,12	5,47 $\pm$ 0,24	4,62 $\pm$ 0,19	13,93 $\pm$ 0,62	10,47 $\pm$ 0,43
28	Контрольна / Control	8,31 $\pm$ 0,39	15,02 $\pm$ 0,65	4,57 $\pm$ 0,19	4,19 $\pm$ 0,21	12,14 $\pm$ 0,53	10,03 $\pm$ 0,42
	Дослідна / Experiment	6,36 $\pm$ 0,27*	13,99 $\pm$ 0,62	4,11 $\pm$ 0,20	4,35 $\pm$ 0,21	14,29 $\pm$ 0,72*	11,07 $\pm$ 0,43
49	Контрольна / Control	7,33 $\pm$ 0,38	11,05 $\pm$ 0,43	3,91 $\pm$ 0,18	4,32 $\pm$ 0,25	10,18 $\pm$ 0,43	9,57 $\pm$ 0,43
	Дослідна / Experiment	9,50 $\pm$ 0,31*	14,87 $\pm$ 0,63*	5,52 $\pm$ 0,29*	4,65 $\pm$ 0,23	13,51 $\pm$ 0,62*	12,53 $\pm$ 0,57
56	Контрольна / Control	10,04 $\pm$ 0,39	12,85 $\pm$ 0,53	5,52 $\pm$ 0,24	4,53 $\pm$ 0,21	11,32 $\pm$ 0,51	10,21 $\pm$ 0,47
	Дослідна / Experiment	14,97 $\pm$ 0,62**	17,81 $\pm$ 0,69*	6,15 $\pm$ 0,30	4,83 $\pm$ 0,19	13,57 $\pm$ 0,49*	12,84 $\pm$ 0,53*

Аналіз динаміки загальних ліпідів свідчить, що цей показник монотонно знижується в часі для печінки гусенят обох дослідних груп: коефіцієнт кореляції з часом  $r = -0,924$  ( $P \leq 0,05$ ).

СОД належить важлива фізіологічна роль в регуляції процесів ВРО. Про це свідчать дані гальмування ПОЛ в нативних мембранах мітохондрій, мікросом, лізосом. СОД-активність та ПОЛ є взаємодоповнювальними компонентами в регуляції вільнорадикальних процесів, дія яких спрямована на стабілізацію мембранних структур клітин. Як стабілізатор клітинного метаболізму та гомеостазу, СОД тісно зв'язана з КАТ і ГПО, вітаміном Е, аскорбатом, глутатионом [1].

Фізіологічна напруга, пов'язана з формуванням пір'я в організмі гусей, характеризувалась зниженням рівня СОД-активності в печінці гусей контрольної групи з 14-ї до 49-ї доби в 1,95 раза і тільки наприкінці дослі-

ду на тлі відновлення рівноваги ПОЛ $\leftrightarrow$ АОА активність цього ензиму підвищилась на 40,0% ( $P \leq 0,05$ ) (табл. 2). З динамікою СОД-активності контрольної групи корелюють зміни КАТ- ( $r=0,933$ ;  $P \leq 0,10$ ) та ГПО-активності ( $r=0,958$ ;  $P \leq 0,05$ ). Саме на тлі формування ювенального пір'я встановлено мінімальну активність не тільки СОД, але й КАТ і ГПО в печінці гусей контрольної групи. Що стосується змін вмісту вітамінів, то вони менш суттєві. Вміст вітаміну А і  $\beta$ -каротину впродовж дослідів втримувався на сталому рівні, а для вітаміну Е мінімальний рівень встановлено у 49-добових гусей, що на 24,5% ( $P \leq 0,05$ ) поступився вихідному значенню.

У печінці гусей дослідної групи зниження СОД-активності встановлено тільки впродовж двох перших тижнів (на 41,8%,  $P \leq 0,01$ ), а з 28-ї доби до кінця дослідів активність цього ензиму зросла у 2,35 раза. Наприкінці дослідів у 56-добових гусенят СОД-активність

печінки дослідної групи на 49,1% ( $P \leq 0,01$ ) перевищила відповідний показник контрольної. Зі змінами СОД-активності дослідної групи корелює динаміка ГПО-активності ( $r=0,908$ ,  $P=0,093$ ). У гусей дослідної групи наприкінці досліду КАТ-активність на відміну від СОД і ГПО не відновлюється до вихідного рівня, впродовж досліду зменшується на 32,3% ( $P \leq 0,05$ ).

Вірогідна різниця за вмістом вітаміну Е у контрольній і дослідній груп гусей встановлена з 28-ї доби до кінця досліду, а  $\beta$ -каротину — тільки в 56-добовому віці.

Отже, підвищення антиоксидантної активності печінки гусей дослідної групи порівняно з контрольною під час формування контурного пір'я спостерігалось на тлі вірогідного зниження СОД-активності і тенденцій до зниження активності КАТ і ГПО. З усіх показників тільки вміст вітаміну Е у дослідній групі вірогідно вищий за контроль. Підвищення антиоксидантної активності під час формування ювенального пір'я відбувається на тлі активізації усіх досліджених ензимів: СОД на 29,6% ( $P \leq 0,05$ ), КАТ — на 34,6% ( $P \leq 0,05$ ), ГПО — на 41,2% ( $P \leq 0,01$ ) та збільшення вмісту вітаміну Е на 32,7% ( $P \leq 0,05$ ) і  $\beta$ -каротину на 30,9% ( $P \leq 0,05$ ).

Відомо, що одним з механізмів підвищення антиоксидантної активності тканин функціонуючого організму може бути зниження вмісту головного субстрату пероксидного окиснення ліпідів ненасичених жирних кислот (НЖК) і, відповідно, здатності ліпідів біомембран до окисного пошкодження [4, 5, 6, 19, 20, 22, 23]. Дослідження змін жирнокислотного складу (ЖКС) ліпідів тканин гусей під час формування контурного і ювенального пір'я дозволило визначити рівень впливу цього механізму на підвищення адаптивних потенцій гусей в зазначеному періоді їхнього розвитку. Результати досліджень ЖКС тканин гусей в цьому досліді було оприлюднено раніше [8]. Доведено, що саме під час формування контурного пір'я в 28-добових гусенят підвищення антиоксидантної активності тканин, і в тому числі й печінки, під впливом екстракту відбувалось на тлі різкого падіння як сумарного вмісту НЖК, так ненасиченості ЖК ліпідів. Отже, підвищення антиоксидантної активності тканин за дії екстракту вівса під час формування контурного пір'я проявляється вибіркоким модулюванням синтезу або окиснення жирних кислот. Підвищення антиоксидантної активності під час формування ювенального пір'я в 49-добових гусей відбувається за рахунок активізації ендогенних антиоксидантів на тлі вирівнювання ЖКС контрольної і дослідної груп, насамперед сумарного вмісту НЖК і, відповідно, ненасиченості.

Контроль динаміки маси гусенят впродовж досліду свідчить про певну тенденцію до збільшення маси гусенят дослідної групи порівняно з контрольною. Втім, вірогідно більшою маса гусей дослідної групи порівняно з контрольною (на 17,9%,  $P \leq 0,05$ ) стає тільки наприкінці досліду в 56-добовому віці і це є додатковим підтвердженням активізації системи АОЗ гусей під впливом екстракту вівса.

## Висновки

Порівняльний аналіз загального виду та стану оперення в гусей контрольної і дослідної груп наприкінці досліду доводить, що в гусей контрольної групи оперення птиці виглядає менш сформованим, особливо махові пера. Розвиток пір'яного покриву дещо затримується, особливо першорядних і другорядних махових і рульових пір'їн порівняно з контурними, окрім того, затримується ріст пір'я на стегах, боках тулуба.

В експериментальній групі оперення загалом і на окремих птериліях виглядає здоровим, свіжим. Продовжують відростати махові і рульові пір'ї на спині. На інших птериліях зростання і розвиток пір'я завершений, у тому числі пухового пір'я і пір'я-пензлика у хвостовій частині.

Таким чином, додавання екстракту вівса до раціону гусей під час формування пір'я підвищує антиоксидантну активність їхньої печінки. Антиоксидантна дія екстракту проявляється під час формування як контурного, так і ювенального пір'я. Втім, механізми реалізації цього впливу суттєво різняться. Під впливом екстракту вівса фізіологічна напруга в тканинах печінки, пов'язана з формуванням контурного пір'я, суттєво послаблюється завдяки вибіркоковому гальмуванню синтезу НЖК. Підвищення антиоксидантної активності у цих тканинах гусей під час формування ювенального пір'я відбувається за рахунок залучення альтернативних механізмів антиоксидантного захисту, які реалізуються підвищенням активності ендогенних антиоксидантів, передусім СОД і КАТ-активності без вірогідних змін ЖКС. За дії екстракту вівса встановлено не тільки вірогідне підвищення маси гусей наприкінці досліду, але й покращення їхніх птерилографічних показників.

## Перспективи подальших досліджень

У наступних дослідженнях доцільно було б провести аналогічні дослідження на диких видах птахів у дичинорозплідниках, оскільки процес формування пір'я саме для цих птахів має принципове значення.

1. Abreu IA, Cabelli DE. Superoxide dismutases—a review of the metal-associated mechanistic variations. *Biochim. Biophys. Acta*. 2010; 1804 (2): 263–274. DOI: 10.1016/j.bbapap.2009.11.005.
2. Antonini E, Diamantini G, Ninfali P. The effect of mechanical processing on avenanthramide and phenol levels in two organically grown Italian oat cultivars. *J. Food Sci. Technol.* 2017; 54: 2279–2287. DOI: 10.1007/s13197-017-2665-x.
3. Bratysenko NI, Gorobets AI, Prytulenko OV. *Recommendations for rationing of poultry feeding*. Ed. by YO Ryabokonya. Borku, Research Institute of Poultry, 2005: 104 p. (in Ukrainian)
4. Damiano F, Giannotti L, Gnani GV, Siculella L, Gnani A. Quercetin inhibition of SREBPs and ChREBP expression results in reduced cholesterol and fatty acid synthesis in C6 glioma cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2019; 117: 105618. DOI: 10.1016/j.biocel.2019.105618.



5. Danchenko OO. The level of consistency of pro-antioxidant balance of goose liver as a criterion for the damaging effects of technological factors. *Sci. Messenger Scientific Messenger LNU Vet. Med. Biotechnol.* 2009; 11, 3 (42): 26–34. (in Ukrainian)
6. Danchenko OO, Kalitka VV, Kolesnik DM. Ontogenetic features of changes in fatty acid composition of goose liver lipids as the main substrate of peroxidation. *Ukr. Biochem. J.* 2003; 75 (3): 124–129. (in Ukrainian)
7. Danchenko OO, Pashchenko JP, Danchenko NM, Zdorovtseva LM. Mechanisms of support prooxidant-antioxidant balance in the liver tissues of geese in hypo- and hyperoxia. *Ukr. Biochem. J.* 2012; 84 (6): 109–114. Available at: <http://ua.ukrbiochemjournal.org/2016/05/mechanizmy-pidtrymky-prooksydantno-antyoksydantnoji-rivnovahy-v-tkanynah-pechinky-husej-v-umovah-hipo-i-hiperoksiji.html> (in Ukrainian)
8. Danchenko O, Zdorovtseva L, Vishchur O, Koshelev O, Halko T, Danchenko M, Nikolayeva Yu, Mayboroda D. Extract of oats as a modulator of fatty acid composition of geese tissues in the conditions of physiological stress. *Biologija.* 2020; 66 (1): 27–34. DOI: 10.6001/biologija.v66i1.4188.
9. Fedorovich EI, Zaplatynsky VS. Current situation and perspectives of geese farming in Ukraine. *Sci. Messenger Scientific Messenger LNU Vet. Med. Biotechnol. Ser. Vet. Med.* 2015; 17 (3): 322–329. Available at: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/570> (in Ukrainian)
10. Ionov IA, Shapovalov SO, Rudenko EV, Dolgaya MN, Akh-tyrsky AV, Zozulya YA, Kornisova TE, Kostyuk IA. *Criteria and methods for controlling metabolism in the body of animals and birds.* Kharkiv, Institute of Animal Husbandry NAAS, 2011: 378 p. (in Russian)
11. Jágr M, Dvořáček V, Čepková PH, Doležalová J. Comprehensive analysis of oat avenanthramides using hybrid quadrupole-Orbitrap mass spectrometry: Possible detection of new compounds. *Rapid Commun. Mass. Spectrom.* 2020; 34 (10): e8718. DOI: 10.1002/rcm.8718.
12. Landau S, Everitt BS. A handbook of statistical analyses using SPSS. Chapman and Hall/CRC. 2003, 366 p. ISBN 9780203009765. DOI: 10.1201/9780203009765.
13. Ltaif M, Gargouri M, Magné C, El Feki A, Soussi A. Protective effects of *Avena sativa* against oxidative stress-induced kidney damage resulting from an estrogen deficiency in ovariectomized Swiss mice model. *J. Food Biochem.* 2020: e13205. DOI: 10.1111/jfbc.13205.
14. Meydani M. Potential health benefits of avenanthramides of oats. *Nutr. Rev.* 2009; 67 (12): 731–735. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2009.00256.x.
15. Montilla-Bascón G, Broeckling CD, Hoekenga OA, Prats E, Sorrells M, Isidro-Sánchez J. Chromatographic methods to evaluate nutritional quality in oat. *Methods Mol. Biol.* 2017; 1536: 115–125. DOI: 10.1007/978-1-4939-6682-0\_8.
16. Nie L, Wise ML, Peterson DM, Meydani M. Avenanthramide a polyphenol from oats, inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and enhances nitric oxide production. *Atherosclerosis.* 2006; 186 (2): 260–266. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.07.027.
17. Rostova NS. Correlations: structure and variability. Saint Petersburg, Publishing house of SPbSU, 2002: 307 p. (in Russian)
18. Singh R, De S, Belkheir A. *Avena sativa* (oat), a potential nutraceutical and therapeutic agent: an overview. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2013; 53 (2): 126–144. DOI: 10.1080/10408398.2010.526725.
19. Tian WX. Inhibition of fatty acid synthase by polyphenols. *Curr. Med. Chem.* 2006; 13 (8): 967–977. DOI: 10.2174/092986706776361012.
20. Vauzour D, Tejera N, O'Neill C, Booz V, Jude B, Wolf IMA, Rigby N, Silvan JM, Curtis PJ, Cassidy A, de Pascual-Teresa S, Rimbach G, Minihane AM. Anthocyanins do not influence long-chain n-3 fatty acid status: studies in cells, rodents and humans. *J. Nutr. Biochem.* 2015; 26 (3): 211–218. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2014.09.005.
21. Viskupičová J, Ondrejovič M, Šturdík E. Bioavailability and metabolism of flavonoids. *J. Food Nutr. Res.* 2008; 47 (4): 151–162.
22. Zdorovtseva LM, Khromishev VO, Danchenko OO. Fatty acid composition of lipids of the brain and heart of geese in hypo- and hyperoxia. *Biol. Bull. Melitopol State Ped. Univ.* 2012; 2 (3): 9–18. DOI: 10.7905/bbmstu.v0i3(6).543. (in Ukrainian)
23. Zhang JS, Lei JP, Wei GQ, Chen H, Ma CY, Jiang HZ. Natural fatty acid synthase inhibitors as potent therapeutic agents for cancers: a review. *Pharm Biol.* 2016; 54 (9): 1919–1925. DOI: 10.3109/13880209.2015.1113995.

## Features of the influence of oat extract on the antioxidant activity of goose liver

Yu. V. Nikolaeva<sup>1</sup>, O. O. Danchenko<sup>2</sup>  
 nndea@ukr.net

<sup>1</sup>Bogdan Khmelnytsky Melitopol State Pedagogical University.  
 20 Hetmanska str., Melitopol, Zaporizhzhya district, 72312, Ukraine

<sup>2</sup>Dmytro Motornyi Tavria state agrotechnological university,  
 18 Bohdan Kmelnytsky ave., Melitopol, Zaporizhzhya district, 72312, Ukraine

The use of antioxidants in poultry feeding helps to relieve stress of various etiologies. Natural antioxidants have a number of advantages over synthetic ones. The aim of the study was to determine the effect of *Avena sativa* oat extract on the peculiarities of the functioning of the antioxidant system of goose liver during the physiological stress of contour and juvenile feather formation (from the 14<sup>th</sup> to the 56<sup>th</sup> day). The state of the antioxidant system in liver tissues was determined by the coefficient of antioxidant activity, the content of the final products of lipoperoxidation, the activity of antioxidant enzymes and the content of fat-soluble vitamins. The results of the experiment showed that the goslings of the control group during the formation of contour feathers have a decrease in antioxidant activity of the liver by 2.36 times, and juvenile — 1.90 times compared to the initial value of this indicator. Adding oat extract to the diet of geese during feather formation increases the antioxidant activity of their liver. Under the influence of the extract, the physiological stress associated with the formation of contour feathers (28 days) is significantly reduced by reducing the content of the main substrate of lipoperoxidation of unsaturated fatty acids, despite the decrease in the activity of all antioxidant enzymes. Increasing antioxidant activity in the liver during the formation of juvenile feathers is due to the inclusion of alternative mechanisms of antioxidant protection, implemented by increasing the activity of endogenous antioxidants: superoxide dismutase by 29.6 (P≤0.05), catalase by 34.6% (P≤0.05), glutathione peroxidase by 41.2% (P≤0.01), and the content of vitamin E by 32.7% (P≤0.05) and β-carotene by 30.9% (P≤0.05). Under the influence of the extract there is not only a significant increase in the weight of geese at the end of the experiment, but also an improvement in their pterylographic performance. Therefore, in the future, it would be advisable to conduct similar studies on wild bird species in kennels, as the process of feather formation is of fundamental importance for these birds.

**Key words:** antioxidant activity, lipoperoxidation products, enzymes, vitamins, liver, physiological stress, feather formation, pterylographic indicators





## Відпрацювання технології і доз застосування нативної та іммобілізованої інвертази у бджільництві

*І. Ф. Безпалій<sup>1</sup>, В. О. Постоєнко<sup>2</sup>, С. В. Мерзлов<sup>1</sup>, Л. П. Король-Безпала<sup>1</sup>*

*ifbezpalyi@ukr.net*

<sup>1</sup>Білоцерківський національний аграрний університет,  
пл. Соборна, 8/1, м. Біла Церква, Київська обл., 09117, Україна

<sup>2</sup>ННЦ «Інститут бджільництва імені П. І. Прокоповича»,  
вул. Заболотного, 19, м. Київ, 03680, Україна

Підвищений вміст сахарози акацієвого меду пов'язаний із впливом двох факторів, які стримують інтенсивність процесу розщеплення дисахариду. З одного боку, це недостатня інвертазна активність глоткових залоз у робочих бджіл, а з іншого — нектар складається переважно із сахарози. Відповідно до ДСТУ 4497:2005, мед натуральний з акації білої має містити сахарози не більше, ніж 10 %, але дуже часто пасічники порушують технологію проведення медозбору і відкачують недостатньо зрілий продукт. Такий мед не допускається до реалізації. Для уникнення цих наслідків необхідно використовувати ензимний препарат інвертази на стадії процесу дозрівання нектару, що дозволить отримати продукт з меншою масовою часткою сахарози. Цей препарат інвертази використовують як харчову добавку кондитерської промисловості, як технологічний засіб для виробництва інвертованого сиропу з розчинів сахарози. Проте інформації щодо застосування штучної інвертази та її впливу на розщеплення дисахариду у бджільництві в друкованих джерелах недостатньо. У цій статті досліджено способи введення ензимного препарату в організм бджіл за переробки нектару. Встановлено дози застосування нативної та іммобілізованої інвертази у бджільництві. Експериментально встановлено, що найефективнішим способом внесення інвертази є задавання ензиму безпосередньо до комірок стільників перед розміщенням їх до гнізда для заповнення нектаром. Застосування 0,2% сухої сироватки молока у сиропі стабілізує і пролонгує дію ензиму у стільниках. Оптимальною дозою внесення ензиму у стільники є 2–3 мг на 50 мг сиропу з вмістом 0,2% сухої сироватки молока.

**Ключові слова:** нативна інвертаза, іммобілізована інвертаза, мед, біла акація, ензим, цукровий сироп, суха сироватка молока

Дозрівання меду — складне біохімічне перетворення нектару за впливу організму бджіл, основане на двох важливих взаємопов'язаних процесах: зменшення масової частки води до 16–18% та розщеплення складних цукрів на моноцукри за дії ензимів [1, 4, 14, 18]. Поряд з цим, сила сім'ї впливає на інтенсивність перетворення нектару та накопичення якіснішого меду. Але якою б не була дуже сильною сім'я, все одно у зрілому продукті залишається певна кількість дисахариду. Гідроліз сахарози відбувається під дією ензиму інвертази, який виділяється глотковими залозами бджіл. Щорічно у процесі розвитку бджолої сім'ї спостерігається нерівномірна інвертуюча здатність секрету, яка залежить як від віку самої робочої особини, так і від сезону

генерації. Весняні бджоли мають низьку активність ензиму, але в наступних поколіннях розвиток залоз посилюється [11, 13, 14, 18, 19].

На період медозбору з білої акації існує закономірність: слабо розвинені глоткові залози у робочих особин та переважання масової частки сахарози в нектарі. Акацієвий мед має підвищений попит, тому пасічники для збільшення його кількості часто відкачують недостатньо зрілий за вмістом сахарози мед, хоча такий мед повністю відповідає вимогам ДСТУ за масовою часткою води. Після аналізу в лабораторії такий продукт не допускають до реалізації і помилково вважають фальсифікованим цукровим сиропом. У літературних джерелах є рекомендації щодо повторного (через 3–4 місяці) проведення лабораторних

досліджень меду, оскільки у процесі зберігання інвертаза меду розщеплює сахарозу [1, 2, 7, 9, 10].

Українські та іноземні пасічники дедалі частіше використовують інвертований цукор для бджіл як заміник меду під час весняної підгодівлі для стимулювання матки, поповнення запасів корму на зиму тощо. Вже готовий продукт у 2–3 рази дорожчий, ніж цукор, тому пасічники власноруч виготовляють його за допомогою дії кислоти або ензимного препарату [7, 12, 15].

На ринку України у продаж надходить ензимний препарат інвертази, який виробляється внаслідок спрямованої ферментації штаму *Penicillium canescens* з подальшим відділенням і концентруванням. Інвертазу використовують як харчову добавку в кондитерській промисловості [6, 16].

Застосування нативних ензимів має недоліки: їхня каталітична активність може знижуватись за дії рН середовища, температури, хімічних сполук тощо. Одним зі способів стабілізації ензимів є їх іммобілізація на носіях різної природи [8].

Використання ензимного препарату в галузі бджільництва вивчене недостатньо, тому ми провели дослідження щодо впливу нативної та іммобілізованої інвертази на процес дозрівання акацієвого меду.

Мета роботи — дослідити способи введення ензимного препарату в організм бджіл за переробки нектару і встановити дози застосування нативної та іммобілізованої інвертази в бджільництві.

## Матеріали і методи

Дослідження проводили на приватній пасіці в Білоцерківському р-ні Київської обл. під час медозбору з білої акації.

Для встановлення технології оптимального способу і розміру доз ензимного препарату в організм бджіл та у набризок нектару за дозрівання меду було сформовано сім груп — контрольну і 6 дослідних по 3 бджолині сім'ї у кожній [3]. Схему дослідів наведено у табл. 1 і 2.

Для встановлення кількості особин, які відвідують напувалки або годівниці у I і III дослідних групах із задаванням ензиму інвертази за межами вулика, проводили відеофіксацію мічених бджіл. За тиждень до початку цвітіння білої акації за допомогою маркерів з різними кольорами було помічено більшість робочих особин (приблизно 80%).

Для приготування розчину використано 3 мл рідини ензимного препарату інвертази (10000 ОД) на 50 мл води або цукрового сиропу (1:1) в розрахунку на одну стандартну рамку (435×300), яка доставляється до гнізда перед медозбором. У VI дослідній групі цукровий сироп містив 0,2% сухої сироватки молока.

Безпосередньо до комірок стільників розпиленням вносили по 50 мл розчину.

Лабораторні дослідження активності інвертази свіжозапечатаного меду проводили за методикою О. Є. Галатюка [5].

**Таблиця 1.** Схеми способів введення препарату інвертази  
**Table 1.** The scheme of invertase drug administration methods

Група / Group	Спосіб введення
Контрольна Control	—
I дослідна I experimental	Задавання ензиму інвертази з водою у напувалках за межами вулика Feeding the enzyme invertase with water in drinkers outside the hive
II дослідна II experimental	Задавання ензиму інвертази з водою у напувалках всередині вулика Feeding the enzyme invertase with water in drinkers inside the hive
III дослідна III experimental	Задавання ензиму інвертази з цукровим сиропом у годівницях за межами вулика Feeding the enzyme invertase with sugar syrup in feeders outside the hive
IV дослідна IV experimental	Задавання ензиму інвертази з цукровим сиропом у годівницях всередині вулика Feeding the enzyme invertase with sugar syrup in the feeder inside the hive
V дослідна V experimental	Розчин ензиму інвертази розпилюють з водою безпосередньо у комірки The invertase enzyme solution is sprayed with water directly into the cells
VI дослідна VI experimental	Розчин ензиму інвертази розпилюють з цукровим сиропом із вмістом 0,2% сухої сироватки молока безпосередньо у комірки The invertase enzyme solution is sprayed with sugar syrup containing 0.2% whey powder directly into the cells

**Таблиця 2.** Схеми дослідів з визначення доз внесеного препарату інвертази в розрахунку на один стандартний стільник (435×300), мл  
**Table 2.** The scheme of the experiment to determine the invertase drug doses per standard cell (435×300), ml

Група / Group	З водою With water	З цукровим сиропом із вмістом 0,2% сухої сироватки молока With sugar syrup containing 0.2% whey powder
Контрольна Control	—	—
I дослідна I experimental	0,5	0,5
II дослідна II experimental	1,0	1,0
III дослідна III experimental	1,5	1,5
IV дослідна IV experimental	2,0	2,0
V дослідна V experimental	2,5	2,5
VI дослідна VI experimental	3,0	3,0

Відбір проб меду, аналіз фізико-хімічних показників здійснювали згідно з ДСТУ 4497:2005 «Мед натуральний. Технічні умови» (ДСТУ 4497:2005, 2007) [9].

## Результати й обговорення

За результатами аналізу зразків запечатаного меду з білої акації, у контрольній групі (натуральний продукт) активність інвертази становить 32,71 ОД/кг (табл. 3).

Варіант, де робочі бджоли мали заносити із водою препарат інвертази до гнізда і додавати до нектару (I дослідна група), не дав позитивних результатів, а показник активності ензиму залишився на рівні контрольної групи. У спостереженнях за міченими особинами відмічено незначний забір води з ензимом бджолами I дослідної групи.

Розміщення напувалок з водою у вуликах II дослідної групи вірогідно не вплинув на підвищення активності інвертази зрілого меду.

**Таблиця 3.** Активність інвертази меду із білої акації ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )  
**Table 3.** Invertase activity of white acacia honey ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

Група сімей Group of families	Активність інвертази, ОД/кг Invertase activity, UN/kg
Контрольна / Control	32,71 $\pm$ 0,458
I дослідна / I experimental	32,39 $\pm$ 0,516
II дослідна / II experimental	33,12 $\pm$ 0,473
III дослідна / III experimental	36,61 $\pm$ 0,597
IV дослідна / IV experimental	47,42 $\pm$ 0,624
V дослідна / V experimental	82,40 $\pm$ 0,736
VI дослідна / VI experimental	97,31 $\pm$ 0,681*

Примітка. \* —  $P \leq 0,05$ .

Note. \* —  $P \leq 0,05$ .

**Таблиця 4.** Дія різних доз ензиму інвертази за дозрівання меду з білої акації ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

**Table 4.** The effect of different doses of the enzyme invertase during the ripening of honey from white acacia ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )

Група / Group	Вміст у натуральному продукті / Content in a natural product, %			
	варіант із водою option with water		варіант із цукровим сиропом option with sugar syrup	
	сахароза	моноцукри	сахароза	моноцукри
Контрольна / Control	4,95 $\pm$ 0,254	75,64 $\pm$ 0,810	4,95 $\pm$ 0,254	75,64 $\pm$ 0,810
I дослідна / I experimental	4,73 $\pm$ 0,342	75,91 $\pm$ 2,716	4,45 $\pm$ 0,318	76,23 $\pm$ 0,806
II дослідна / II experimental	4,64 $\pm$ 0,380	76,00 $\pm$ 1,097	3,81 $\pm$ 0,196*	76,85 $\pm$ 0,908
III дослідна / III experimental	4,25 $\pm$ 0,411	76,41 $\pm$ 3,120	2,21 $\pm$ 0,280**	78,37 $\pm$ 0,216*
IV дослідна / IV experimental	2,85 $\pm$ 0,196*	77,78 $\pm$ 1,206	0,18 $\pm$ 0,015***	80,44 $\pm$ 0,305*
V дослідна / V experimental	2,42 $\pm$ 0,203**	78,10 $\pm$ 0,415*	0,17 $\pm$ 0,009***	80,43 $\pm$ 0,215**
VI дослідна / VI experimental	1,75 $\pm$ 0,215**	78,89 $\pm$ 0,408*	0,15 $\pm$ 0,011***	80,46 $\pm$ 0,230**

Примітка. \* —  $P \leq 0,05$ ; \*\* —  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* —  $P \leq 0,001$ .

Note. \* —  $P \leq 0,05$ ; \*\* —  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* —  $P \leq 0,001$ .

Використання цукрового сиропу як джерела препарату інвертази дещо змінює ситуацію надходження ензиму до продукту в процесі дозрівання. Наприклад, мед від бджолосімей III дослідної групи відзначився збільшенням активності інвертази на 3,9 ОД/кг. Візуально відмічено забір цукрового сиропу збагаченим ензимом інвертази бджолами-збирачками.

У зразках меду із сімей IV дослідної групи за згодовування цукрового сиропу з ензимом через години над гніздом відбулось підвищення активності інвертази на 44,95% порівняно з контролем. Отже, цукровий сироп більше, ніж вода, підходить як джерело ензимного препарату інвертази. Відмінності у показниках III і IV дослідних груп пов'язані з розміщенням препарату стосовно гнізда та доступу протягом доби. Бджоли IV групи, переробивши принесений вдень нектар, мали доступ до цукрового сиропу вночі, тоді як збирачки з III групи такої можливості не мали, а зранку приступали до збирання нових порцій нектару і лише за припинення нектаровиділення шукали нові джерела взятку.

За внесення препарату інвертази безпосередньо до комірок стільників розприскуванням водного розчину (V дослідна група) ензимна активність меду збільшилась у 2,5 рази порівняно з контролем.

Розчин ензимного препарату у складі цукрового сиропу з вмістом 0,2% сухої сироватки молока (VI дослідна група), внесений у комірки стільників перед підготовкою до медозбору, підвищив активність інвертази зрілого меду на 14,9 ОД/кг порівняно з водним розчином (V дослідна група) і майже у 3 рази — порівняно з контролем.

Також було проведено дослідження щодо оптимальних доз ензимного препарату інвертази, внесенного безпосередньо до комірок стільників у вигляді розчину з дистильованою водою та з цукровим сиропом (1:1) із вмістом 0,2% сухої сироватки молока.

За результатами аналізу зразків свіжозапеченого білоакацієвого меду, в натуральному продукті контрольної групи сімей було встановлено вміст сахарози 4,95% та 75,64% моноцукрів (табл. 4).

Внесення ензимного препарату із водою у I–III дослідних групах (0,5–1,5 мг на 50 мл води на 1 стандартний стільник 435×300) вірогідно не сприяло зниженню вмісту сахарози у меді.

За внесення 2 мг ензиму на 50 мл води (IV дослідна група) вміст сахарози у продукті зменшився в 1,73 раза.

Найвищий рівень гідролізу сахарози був у VI дослідній групі: зменшення вуглеводу у 2,82 раза щодо контролю.

За збільшення вмісту ензиму у воді масова частка моноцукрів у меді підвищується на 0,27–3,25%. Варто зазначити, що в V і VI дослідних групах різниця була вірогідною.

За додавання ензиму в складі цукрового сиропу з вмістом 0,2% сухої сироватки молока у I дослідній групі зниження вмісту сахарози було на рівні 0,5% щодо контролю.

У II та III дослідній групі вміст сахарози у меді був меншим на 1,14% ( $P \leq 0,05$ ) та 2,74% ( $P \leq 0,001$ ).

За внесення максимальної дози ензиму (3 мг на 50 мг сиропу) вміст сахарози знижується у 33 рази ( $P \leq 0,001$ ) щодо контролю.

За порівняння дії ензиму у складі сиропу до дії ензиму у складі води, у VI дослідній групі виявлено значне покращення гідролізу сахарози у моноцукри — 11,7 раза.

## Висновки

1. Найефективнішим способом внесення інвертази є задавання ензиму безпосередньо до комірок стільників перед розміщенням їх до гнізда для заповнення нектаром.

2. Застосування 0,2% сухої сироватки молока у сиропі стабілізує і пролонгує дію ензиму у стільниках. Це поєднання змушує робочих бджіл додавати вкрай необхідний та дефіцитний у цей період ензим інвертази до продукту, який перетворюється на мед.

3. Оптимальною дозою внесення ензиму у стільники є 2–3 мг на 50 мг сиропу з вмістом 0,2% сухої сироватки молока.

## Перспективи подальших досліджень

У подальшому плануємо вивчити застосування іммобілізованої інвертази під час медозборів з озимого ріпаку, липи і соняшнику та розрахувати оптимальні дози внесення ензиму.

1. Ahanyan AV. *Honey and its research*. Saratov, Saratov University Publishing House, 1985: 152 p. (in Russian)

2. Aumeeruddy MZ, Aumeeruddy-Elalfi Z, Neetoo H, Zengin G, Blom van Staden A, Fibrich B, Lambrechts IA, Rademan S, Szuman KM, Lall N, Mahomoodally F. Pharmacological activities, chemical profile, and physicochemical properties of raw and commercial honey. *Biocat. Agricul. Biotechnol.* 2019; 18: 101005. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.01.043.
3. Brovarskyi VD, Brindza Y, Otchenashko VV, Povochnikov MH, Adamchuk LO. *Methods of research in beekeeping*. A textbook. Kyiv, Vinichenko Publishing House, 2017. 166 p. (in Ukrainian)
4. Ceksteryte V, Racys J. The quality of syrups used for bee feeding before winter and their suitability for bee wintering. *J. Apicult. Sci.* 2006; 50 (1): 5–14. Available at: <http://www.jas.org.pl:81/The-quality-of-syrups-used-for-bee-feeding-before-winter-and-their-suitability-for-bee-wintering,0,75.html>
5. Galatuyk A, Tihonova T, Lazareva L, Shtangret L, Shapoval G, Koval O, Galatuyk O. Determination of invertase and diastase contents for the assessment of honey quality. *Ukr. Black Sea Region Agr. Sci.* Mykolaiv, 2013; 4 (75): 48–54. Available at: <https://visnyk.mnau.edu.ua/n75v4r2013t2c1galatuyuk> (in Ukrainian)
6. Invertase (sucrose). Enzim Biotech. Available at: <https://invertase.enzim.biz>
7. Lichtenberg-Kraag B. Evidence for correlation between invertase activity and sucrose content during the ripening process of honey. *J. Apicult. Res.* 2014; 53 (3): 364–373. DOI: 10.3896/IBRA.1.53.3.03.
8. Merzlov SV. Immobilization of exogenous phytase with the participation of domestic natural minerals and the use of the obtained feed additive in the diets of broiler chickens. *Sci.-Tech. Bull. Inst. Anim. Biol. SCIVP Vet. Med. Prod. Feed Add.* 2009; 10 (3): 229–232. (in Ukrainian)
9. National Standard of Ukraine 4497-2005. Natural honey. Specifications: Kyiv, Derzhspozhyvstandart Ukrainy, 2005. 36 p. (in Ukrainian)
10. Postoienko V, Lazareva L, Iaremchuk A. The main indicators to measure the quality and safety of honey bee in Ukraine and their harmonization with EU requirements. *East Eur. Sci. J.* 2019; 12 (52): 14–21. (in Ukrainian)
11. Razanov SF, Bezpalii IF, Bala VI, Donchenko TA. *Technology of beekeeping production*. Kyiv, Agrarian Education, 2010: 277 p. (in Ukrainian)
12. Sahin H, Kolayli S, Beykaya M. Investigation of variations of invertase and glucose oxidase degrees against heating and timing options in raw honeys. *J. Chem.* 2020; 1: 5398062. DOI: 10.1155/2020/5398062.
13. Sak-Bosnar M, Sakač N. Direct potentiometric determination of diastase activity in honey. *Food Chem.* 2012; 135 (2): 827–831. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.05.006.
14. Simpson J, Riedel IBM, Wilding N. Invertase in the hypopharyngeal glands of the honey bee. *J. Apicult. Res.* 1968; 7 (1): 29–36. DOI: 10.1080/00218839.1968.11100184.
15. Taran SI. Honey productivity and invertase activity of Ukrainian bees. *SNAU Bull. Livestock.* Sumy, 2014; 2/2 (25): 98–102. (in Ukrainian)
16. Ukrainets AI, Shtanheeva NI, Klymenko LS. *Technologies of sugar products and sugar substitutes*. A textbook. Kyiv, NUKhT, 2009: 231 p. (in Ukrainian)
17. Winter H, Huber SC. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2000; 35 (4): 253–289. DOI: 10.1080/10409230008984165.
18. Winter H, Huber SC. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. *Crit. Rev. Plant Sci.* 2000; 19 (1): 31–67. DOI: 10.1080/07352680091139178.
19. Zhrebkyn MV. Invertase activity and medical productivity. *Beekeeping.* 1970; 11: 10–11. (in Russian)

## Development of technology and doses of native and immobilized invertase in beekeeping

I. F. Bezpalyi<sup>1</sup>, V. O. Postoienko<sup>2</sup>, S. V. Merzlov<sup>1</sup>, L. P. Korol-Bezpal<sup>1</sup>  
ifbezpalyi@ukr.net

<sup>1</sup>Bila Tserkva National Agrarian University,

8/1 Soborna sq., Bila Tserkva, Kyiv region, 09117, Ukraine

<sup>2</sup>HSC "Institute of Beekeeping named after P. I. Prokopovich",

19 Zabolotnoho str., Kyiv, 03680, Ukraine

The increased sucrose content of acacia honey is associated with the influence of two factors that restrain the intensity of the disaccharide breakdown process. On the one hand, this is an insufficient invertase activity of the pharyngeal glands in worker bees, and on the other hand, nectar consists mainly of sucrose. According to National Standard of Ukraine 4497:2005, natural honey from white acacia should contain no more than 10% sucrose, but very often beekeepers violate the technology of honey collection and an insufficiently mature product is pumped out. Such honey is not allowed for sale. To avoid such consequences, the use of the enzyme preparation invertase at the stage of the nectar maturation process will contribute, it will make it possible to obtain a product with a lower mass fraction of sucrose. This invertase preparation is used as a food additive in the confectionery industry as a technological tool for the production of invert syrup from sucrose solutions. However, the available information in printed sources on the use of artificial invertase and its effect on the breakdown of disaccharide in beekeeping has not been sufficiently studied. The article investigates the methods of introducing an enzyme preparation into the body of bees for processing nectar. The doses of native and immobilized invertase in beekeeping have been determined. It has been experimentally established that the best way to introduce invertase is to add the enzyme directly to the cells of the combs before placing them in the nests for filling with nectar. Application of 0.2% milk whey powder in syrup stabilizes and prolongs the effect of the enzyme in the honeycomb. The optimal dose of enzyme introduction into the honeycomb is 2–3 mg per 50 mg of syrup with 0.2% milk whey powder.

**Key words:** native invertase, immobilized invertase, honey, white acacia, enzyme, sugar syrup, milk whey powder





ІНСТИТУТ  
БІОЛОГІЇ  
ТВАРИН  
НААН



UNIwersYTET  
ROLNICZY  
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie



INSTYTUT ZOOTECHNIKI  
PAŃSTWOWY  
INSTYTUT  
BADAWCZY

ОФІЦІЙНІ ПАРТНЕРИ ФОРУМУ:



Lviv city  
council



Запрошуємо Вас взяти участь  
у І українсько-польському науковому форумі

# «АГРОБІОПЕРСПЕКТИВИ»

(29–30 вересня 2021 р.)

## Організатори:

Національна академія аграрних наук України  
Інститут біології тварин НААН (м. Львів, Україна)  
Краківський аграрний університет імені Хуго Коллонтая (Польща)  
Інститут зоотехніки (м. Балице, Польща)

## Місце проведення:

Інститут біології тварин НААН,  
м. Львів, вул. В. Стуса, 38

## Робочі мови:

Англійська, українська, польська

## Формат проведення:

Персональна участь, он-лайн

## Тематика і основні напрями:

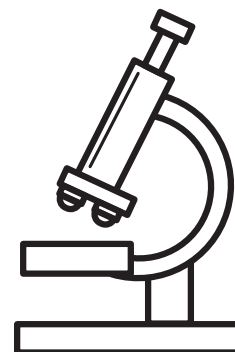
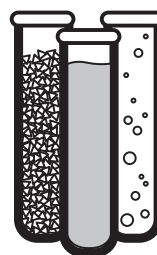
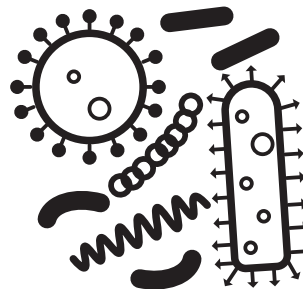
- Проблеми тваринництва в умовах екологічних викликів сучасності
- Годівля та біологія продуктивності тварин
- Здоров'я тварин
- Біотехнологія у тваринництві
- Селекція та розведення тварин
- Забруднення навколишнього середовища відходами тваринництва
- Проблеми якості, безпечності виробництва і переробки продукції тваринництва
- Особливості виробництва органічної тваринницької продукції

## Контактна інформація:

Додаткову інформацію Ви можете знайти на сторінці форуму:  
<http://www.inenbiol.com/index.php/informatsiia>

# ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН ПРОВОДИТЬ:

- Дослідження біохімічних показників  
(аналізатор *Humalyzer 2000*, Німеччина)
- Гематологічний аналіз  
(аналізатор *Mythic-18Vet*, Швейцарія)
- Мікробіологічні дослідження  
(посів на стерильність, антибіотикограма,  
склад мікрофлори кишечника тварин,  
мікробіологічний аналіз кормів, води, повітря)
- Імуноферментні дослідження  
(аналізатор *Stat Fax 3000*, Німеччина)
- Оцінка репродуктивної здатності тварин,  
штучне осіменіння, трансплантація ембріонів
- Селекційно-генетичні дослідження
- Дослідження кормів
- Дослідження молока
- Дослідження яєць
- Визначення показників якості меду
- Дослідження вовни і волосся
- Атомно-абсорбційний і атомно-емісійний аналіз  
концентрації хімічних елементів
- Аналіз органічних добрив



Організовує проведення досліджень на лабораторних тваринах  
і надає кваліфіковану інтерпретацію отриманих результатів.

\* можливе проведення інших досліджень

\*\* всі лабораторії інституту акредитовані для проведення досліджень

**Інститут біології тварин НААН**  
вул. В. Стуса 38, м. Львів, 79034  
тел.: +38 (032) 270-23-89, +38 (96) 858-37-76  
e-mail: [markinfo@inenbiol.com.ua](mailto:markinfo@inenbiol.com.ua)

*Завжди раді співпраці з Вами!*