



Вплив лікувально-профілактичної кормової добавки на рубцеву ферментацію хворих на кетоз корів

С. Р. Сачко
sa4ko_sergyn@ukr.net



Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

ORCID:

S. R. Sachko <https://orcid.org/0000-0002-7731-3836>

Authors' Contributions:

SRS: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Project administration; Supervision; Writing — review & editing.

Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

Ethical approval:

A permission to conduct the research was obtained from the Committee on Bioethics of the Institute of Animal Biology NAAS (Protocol no. 126 from 27.02.2023, Lviv, Ukraine).

Acknowledgements:

The authors express their official thanks to N. O. Shepel, the chief technologist of the "Druzhba-Kaznacheivka" water treatment plant of the Dnipropetrovsk region for practical help in conducting the experimental part of the research.

Іонофорні антибіотики регулюють рубцеву ферментацію, покращують використання протеїну корму, запобігають кетозу та стеатозу. Вони і β -кислоти хмелю пригнічують активність більшості грампозитивних мікроорганізмів рубця. Бактерії потребують вітаміну Е як активного антиоксиданта клітинних мембран. Токсичність токоферолу дуже низька, тому додавання його до раціону жуйних у кількості, більшій за рекомендовану, може стимулювати целюлозолітичні бактерії рубця і зменшити негативний вплив іонофорів на гідроліз клітковини. Бактерії рубця розщеплюють значну частину кормового холіну, метіоніну та карнітину, тому жуйним варто отримувати їх у захищеній формі. Сформовано три групи корів української молочної чорно-рябої породи (>5 тис. кг за попередню лактацію): з симптомами клінічного кетозу ($n=4$), з субклінічним кетозом ($n=5$) і клінічно здорові ($n=5$). Коровам з кетозом протягом місяця згодовували добавку з подрібненими гранулами шишок хмелю (20 г), вітаміном Е (3 г) і захищеними від розщеплення в рубці холіном (50 г), метіоніном (20 г) і карнітином (1 г). Здорові корови слугували контролем. У крові корів з субклінічним кетозом добавка збільшила рівень глюкози і зменшила рівень β -гідроксибутирату до клінічної норми. У корів з симптомами клінічного кетозу концентрація β -гідроксибутирату теж знизилася ($P<0,01$), проте перевищувала норму. У хворих корів амілолітична та ліполітична активності були нижчими, ніж у здорових ($P<0,05-0,01$). Целюлозолітична активність була нижчою лише за клінічного кетозу. Протеолітична активність за кетозу була вищою ($P<0,05-0,01$) як наслідок зростання в рубці кількості та активності бактерій-гіперпродуцентів аміаку. Після лікування субклінічного кетозу целюлозолітична і амілолітична активності рубцевої рідини дорівнювали контрольним показникам, а протеолітична активність була навіть дещо нижчою ($P<0,05$). Лікування клінічної форми кетозу було менш ефективне, хоча тенденції зберігались. За обох форм кетозу у вмісті рубця виявлено більшу кількість аміаку ($P<0,05-0,01$) як наслідок вищої протеолітичної активності; концентрація летких жирних кислот в рубці знижувалась, а концентрація лактату зростала ($P<0,05-0,01$). Після згодовування добавки вказані показники за субклінічного кетозу наблизились до контролю, тоді як за клінічного кетозу стан покращувався, але концентрація аміаку і далі відрізнялась від норми.

Ключові слова: корови, кетоз, рубець, шишки хмелю, вітамін Е



Attribution 4.0 International
(CC BY 4.0)

Відомо, що іонофорні антибіотики впливають на рубцеву ферментацію, покращують використання протеїну корму. Вони здатні зменшувати інтенсивність наслідків негативного енергетичного балансу у високопродуктивних корів [5, 8]. У більшості досліджень виявлено зниження концентрації кетонових тіл у їхній крові [6, 13, 8]. Іонофори збільшують утворення в рубці попередника глюкози — пропіонату, а також зменшують розщеплення амінокислот [20]. За застосування іонофорів знижується ймовірність виникнення у корів субклінічного і клінічного кетозу [7, 4, 27, 19].

У високопродуктивних корів часто спостерігається жирове переродження печінки, зумовлене надмірним депонуванням триацилгліцеролів у гепатоцитах. Під впливом іонофорів стимулюється синтез гепатоцитами карнітин-пальмітоїл трансферази, яка транспортує жирні кислоти у мітохондрії для подальшого бета-окислення [24], внаслідок чого відбувається зменшення накопичення триацилгліцеролів у печінці [21, 36].

Іонофорні антибіотики і β -кислоти хмелю проявляють подібний спектр біологічної активності, вони пригнічують активність більшості грампозитивних мікроорганізмів рубця [10, 11]. Зокрема, β -кислоти інгібують активність грампозитивних бактерій *S. bovis*, які є одним з основних продуцентів лактату в рубці жуйних. Разом з тим, деякі грампозитивні бактерії нечутливі до β -кислот — наприклад, бактерії класу *Negativicutes* [10]. Представник цього класу *M. elsdenii* є важливим продуцентом пропіонату в рубці. Отже, за дії біологічно активних кислот суплідь хмелю у вмісті рубця знижується продукція молочної кислоти. Продукція пропінової кислоти кількісно переважно не змінюється, проте внаслідок деякого зниження кількості ацетату частка пропіонату у рубцевій рідині стає більшою [10]. Як й іонофорні антибіотики, β -кислоти шишок хмелю знижують протеолітичну активність та пригнічують утворення аміаку і метаногенез у рубці [39, 12, 2].

Шишки хмелю містять низку біологічно активних компонентів, подібних за дією до антибіотиків-іонофорів — це пренільовані флавоноїди: гумулон (α -кислоти), лупулон (β -кислоти) та їхні похідні [35, 11]. Вказані компоненти шишок хмелю можна розглядати як потенційний замітник іонофорних антибіотиків [37, 9]. Основними й найчисленнішими біологічно активними компонентами шишок хмелю є гідрофобні α - і β -кислоти або, як їх ще називають, «гіркі кислоти». α -кислоти представлені шістьма сполуками, серед яких хумулон (35–70%), кохумулон (20–55%), адхумулон (10–15%), а також мінорні компоненти: постхумулон, прехумулон та адпрехумулон [17]. До β -кислот належать лупулон (30–55%), колупулон (20–55%), адлупулон (5–10%), прелупулон і постлупулон [17].

Шишки хмелю містять поліфенольні компоненти, кількість яких відносно невелика (3–6%), проте вони проявляють значну біологічну активність [18, 29]. Як і β -кислоти, поліфенольні сполуки діють переважно на грампозитивні бактерії [32]. Відносно висока активність характерна для поліфенолів групи пренілфлавоноїдів,

які діють на грампозитивні бактерії та деякі гриби і протисти [23].

Інша велика група біологічно активних речовин шишок хмелю — це ефірні олії, які також продукуються лупуліновими залозами [3]. Протимікробна активність притаманна ефірним оліям хмелю, проте вона менша порівняно з дією гірких кислот і поліфенолів [17].

Наявні у шишках хмелю сполуки мають значні антиоксидантні властивості [1, 40]. Найвища антиоксидантна дія характерна для поліфенолів хмелю, які ефективно нейтралізують активні форми Оксигену [25, 31]. Крім того, поліфеноли інгібують ензими, задіяні у генеруванні активних форм Оксигену [17]. Антиоксидантна дія притаманна також α - і β -кислотам [17].

Бактерії, як й інші живі організми, потребують наявності вітаміну Е як активного антиоксиданта клітинних мембран. Причому мікроорганізми потребують більших доз вітаміну Е, ніж сама тварина [14]. За згодовування або парентерального введення жуйним токоферолу враховують потребу саме тварини, тоді як мікроорганізм рубця цієї кількості недостатньо. Токсичність токоферолу дуже низька, тому додавання його до раціону жуйних у підвищених кількостях стимулює целюлолітичні бактерії рубця та компенсує пригнічення іонофорами розщеплення клітковини раціону [30].

Карнітин необхідний для транспортування довголанцюгових жирних кислот з цитоплазми в мітохондрії, ацетил-КоА з пероксисом в цитоплазму, також він регулює співвідношення ацил-КоА/КоА-SH [28]. За надмірного надходження жирних кислот до печінки карнітин посилює їх окислення, зменшуючи цим накопичення триацилгліцеролів у гепатоцитах [22].

Холін є компонентом фосфатидилхоліну і відомий як гепатопротектор [16]. Холін бере участь у регуляції секреції інсуліну і розглядається як попередник ацетилхоліну [33, 15].

Метіонін — незамінна амінокислота, яка широко застовується для захисту печінки [38]. Метаболізм метіоніну та холіну тісно взаємопов'язаний, їх часто вважають взаємозамінними з точки зору гепатопротекції, проте нещодавно виявлено, що вказані сполуки по-різному впливають на стан печінки і молочну продуктивність корів [38].

Оскільки бактерії рубця розщеплюють значну частину кормового холіну, метіоніну та карнітину, жуйні повинні отримувати їх у захищеній формі [16, 33, 38, 26], тому їхній вплив на рубцеву ферментацію незначний.

Матеріали і методи

У корів української молочної чорно-рябої породи з продуктивністю 5 і більше тис. кг молока за попередню лактацію після отелення взяли зразки венозної крові для визначення концентрації глюкози і β -гідроксибутирату. Для досліду підібрано 3 групи корів: з ознаками клінічного кетозу (концентрація β -гідроксибутирату у крові $>3,0$ ммоль/л) —

4 тварини; з субклінічним кетозом (концентрація β -гідроксибутирату 1,3–2,2 ммоль/л) — 5 тварин та клінічно здорові (концентрація β -гідроксибутирату 0,2–1,1 ммоль/л) — 5 тварин.

Хворим на кетоз коровам протягом місяця до комбікорму додавали лікувально-профілактичну добавку, яка містить: подрібнені гранули шишок хмелю — 20 г, вітамін Е — 3 г, та захищені від розщеплення у рубці холін — 50 г, метіонін — 20 г, карнітин — 1 г. Клінічно здорові корови слугували контролем.

Для лабораторних досліджень використовували вміст рубця і кров. Матеріал для аналізу брали через тиждень та через місяць після отелення. У рубцевій рідині визначали протеїн методом К'ельдаля, вміст аміаку за Конвеєм, молочної кислоти — за Баркером-Саммерсоном, загальний вміст летких жирних кислот — методом парової дистиляції в апараті Марк-гама, рН згідно з методами, викладеними у довіднику [34]. У крові визначали концентрацію глюкози і β -гідроксибутирату за допомогою глюкокетометра CareSens Dual (i-Sens, Південна Корея).

Результати та їх обговорення

Лікувально-профілактична добавка, яка містить подрібнені гранули шишок хмелю, вітамін Е та захищені від розщеплення у рубці холін, метіонін і карнітин, знижує концентрацію β -гідроксибутирату та збільшує концентрацію глюкози в крові корів. У корів з субклінічною формою кетозу спостерігають нормалізацію показників крові, а у хворих на клінічний кетоз корів захворювання переходить у субклінічну форму (табл. 1).

У корів із симптомами клінічного кетозу згодуювання кормової добавки знизило концентрацію β -гідроксибутирату в крові — з 4,08 ммоль/л на початку до 2,78 ммоль/л наприкінці дослідження ($P < 0,01$). Добавка суттєво зменшила кількість кетонів тіл, проте їхня концентрація залишалась на відносно високому рівні; це свідчить, що інтенсивність перебігу патологічного процесу хоч і знизилась, але недостатньо для повного одужання, тобто захворювання перейшло у легшу субклінічну форму. Концентрація глюкози у сироватці крові цих корів зросла на 50% — з 1,95 до 2,93 ммоль/л ($P < 0,01$).

Різниця між показниками концентрації глюкози в крові здорових і хворих на субклінічний кетоз корів становила 15,3% ($P < 0,05$). Вміст β -гідроксибутирату у крові корів із субклінічним кетозом у 2,6 рази перевищував показник здорових корів ($P < 0,001$). Лікувально-профілактична добавка збільшила концентрацію глюкози та зменшила концентрацію β -гідроксибутирату; ці показники увійшли в межі норми, проте залишались вищими від показників здорових корів.

У клінічно здорових корів протягом дослідного періоду також виникли певні зміни метаболічного профілю крові. За порівняння показників на початку

Таблиця 1. Концентрація глюкози та β -гідроксибутирату у крові корів

Table 1. Glucose and β -hydroxybutyrate concentrations in the cows blood

Показники Parameters	Групи корів / Groups of cows		
	клінічно здорові healthy	субклінічний кетоз subclinical ketosis	клінічний кетоз clinical ketosis
<i>Початок дослідження / The beginning of the experiment</i>			
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	2,42± ±0,13	2,05± ±0,08*	1,95± ±0,17*
β -Гідроксибутират, ммоль/л β -Hydroxybutyrate, mmol/L	0,64± ±0,10	1,65± ±0,09***	4,08± ±0,26***
<i>Кінець дослідження / The end of the experiment</i>			
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	2,87± ±0,08#	2,69± ±0,12##	2,93± ±0,11##
β -Гідроксибутират, ммоль/л β -Hydroxybutyrate, mmol/L	0,56± ±0,07	1,06± ±0,12***	2,78± ±0,30***

Примітка. Тут і далі: * — ступінь вірогідності різниці у показниках хворих корів порівняно з здоровими; * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$; # — ступінь вірогідності різниці у показниках до і після лікування; # — $P < 0,05$; ## — $P < 0,01$; ### — $P < 0,001$.

Note. Here and further: * — statistical significance between sick and healthy cows; * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$; # — statistical significance in each group before and after treatment; # — $P < 0,05$; ## — $P < 0,01$; ### — $P < 0,001$.

Таблиця 2. Азотовий та вуглеводний обмін у вмісті рубця

Table 2. Nitrogen and carbohydrate metabolism in rumen contents

Показники / Parameters	Групи корів / Groups of cows		
	клінічно здорові healthy	субклінічний кетоз subclinical ketosis	клінічний кетоз clinical ketosis
<i>Початок дослідження / The beginning of the experiment</i>			
Білковий азот, ммоль/л Protein nitrogen, mmol/L	58,45± ±4,76	52,33± ±5,11	45,27± ±3,18*
Мікробний азот, ммоль/л Microbial nitrogen, mmol/L	38,37± ±2,65	39,62± ±1,97	31,24± ±2,03*
ЛЖК, ммоль/л VFA, mmol/L	122,67± ±9,75	108,69± ±6,14	89,36± ±7,32**
Азот аміаку, ммоль/л Ammonia nitrogen, mmol/L	5,71± ±0,52	6,41± ±0,40*	7,63± ±0,29**
Лактат, ммоль/л Lactate, mmol/L	4,02± ±0,13	4,59± ±0,10*	5,27± ±0,06**
рН	6,70± ±0,11	6,79± ±0,15	6,78± ±0,17
<i>Кінець дослідження / The end of the experiment</i>			
Білковий азот, ммоль/л Protein nitrogen, mmol/L	57,28± ±3,98	55,81± ±3,14	50,42± ±2,81
Мікробний азот, ммоль/л Microbial nitrogen, mmol/L	36,83± ±1,77	37,55± ±2,05	35,89± ±3,12
ЛЖК, ммоль/л VFA, mmol/L	121,39± ±5,87	123,13± ±7,34#	107,75± ±4,67***
Азот аміаку, ммоль/л Ammonia nitrogen, mmol/L	5,24± ±0,43	5,11± ±0,29#	6,09± ±0,32**
Лактат, ммоль/л Lactate, mmol/L	4,32± ±0,27	4,65± ±0,19	4,96± ±0,06*
рН	6,63± ±0,07	6,67± ±0,09	6,73± ±0,12

і наприкінці досліду виявлено збільшення концентрації глюкози на 18,6% ($P < 0,05$).

Як видно з результатів, наведених у табл. 2, захворювання на кетоз змінює перебіг рубцевої ферментації у корів. Виявлено зміни у інтенсивності розщеплення клітковини, крохмалю, протеїну та ліпідів. Зокрема, порівняно з коровами контрольної групи, амілолітична активність рубцевої рідини корів з субклінічним кетозом знизилась на 6,5% ($P < 0,05$), а у хворих на клінічний кетоз корів цей показник був нижчим на 16,5% ($P < 0,01$). Подібну тенденцію спостерігали для целюлозолітичної активності, проте для цієї групи ферментів меншу активність виявили лише в корів, хворих на клінічний кетоз, у яких зниження становило 11,4% ($P < 0,05$). У корів з субклінічним кетозом змін целюлозолітичної активності у рубцевій рідині не виявлено, тобто у цій групі вказана активність не відрізнялась від показника рубцевої рідини здорових корів. У хворих корів значно знизилась ліполітична активність: за субклінічного кетозу — на 12,9% ($P < 0,05$), а за клінічної форми цього захворювання — на 21,5% ($P < 0,01$). Такі зміни можуть бути наслідком меншого споживання корму хворими коровами, а також змін чисельності та функціонування мікроорганізмів рубця внаслідок порушень метаболізму і погіршення загального стану хворих тварин. Протеолітична активність вмісту рубця змінювалась протилежно, тобто у хворих корів вона зростала. Зокрема, в рубці корів із субклінічним кетозом протеолітична ак-

тивність була вищою на 12,5% ($P < 0,05$), а в рубці корів з клінічною формою кетозу — на 22,4% ($P < 0,01$) порівняно зі здоровими коровами. Це є наслідком характерного для кетозу корів зростання у рубці чисельності та активності бактерій гіперпродуцентів аміаку.

У результаті додавання до комбікорму корів проти-кетозної добавки встановлено позитивний вплив на рубцеву ферментацію. Після лікування корів із субклінічним кетозом целюлозолітична й амілолітична активності рубцевої рідини вирівнялась з відповідними показниками здорових корів, а протеолітична активність була навіть дещо нижчою ($P < 0,05$), ніж у контрольній групі.

Проте лікування корів з клінічною формою кетозу було не таким ефективним. Амілолітична активність в рубцевій рідині цих корів залишалась нижчою порівняно зі здоровими тваринами ($P < 0,05$), хоча була більшою, ніж до лікування ($P < 0,05$). Целюлозолітична активність рубцевої рідини після лікування клінічного кетозу була дещо меншою, ніж у корів контрольної групи, хоча ця різниця не була статистично вірогідною. Після лікування протеолітична активність рубцевої рідини корів, хворих на субклінічний кетоз, знизилась на 15,0% ($P < 0,05$), а в корів з клінічним кетозом — навпаки, зросла на 5,5%, хоча й статистично невірогідно порівняно з контрольною групою. На ліполітичну активність досліджувану добавку не вплинула, цей показник залишався нижчим після лікування як субклінічного ($P < 0,05$), так і клінічного кетозу ($P < 0,01$).

Таким чином, за порівняння показників рубцевої ферментації до і після лікування виявлено зниження протеолітичної активності в рубці корів, які мали субклінічний кетоз ($P < 0,01$), та зростання амілолітичної ($P < 0,05$) і зменшення протеолітичної активності ($P < 0,01$) в рубці корів, яких лікували від клінічної форми кетозу. Інші показники в рубці корів кожної з груп після лікування суттєво не змінювались.

Таку дію можна пояснити пригніченням життєдіяльності бактерій-гіперпродуцентів аміаку біологічно активними сполуками хмелю, насамперед лупулоном і його похідними. Менш інтенсивне зниження целюлозолітичної активності, очевидно, спричинене частковою її компенсацією внаслідок стимулювальної дії вітаміну Е на цю групу рубцевих бактерій. З дією вітаміну Е може бути пов'язане і зниження ліполітичної активності.

Згідно з наведеними у табл. 3 даними, захворювання на кетоз впливає на інтенсивність і спрямованість рубцевої ферментації, причому за клінічного перебігу цього захворювання зміни виражені значно суттєвіше, ніж за субклінічної форми. За субклінічного кетозу основні особливості обміну азотистих сполук стосувались збільшення концентрації аміаку в рубцевій рідині, яка перевищувала відповідний показник в рубці здорових корів на 12,3% ($P < 0,05$). Клінічна форма кетозу суттєвіше впливала на ферментацію протеїну та утворення продуктів його розпаду. Концентрація аміаку в цьому випадку зростала на 33,6% ($P < 0,01$). При цьому, на відміну від корів з субклінічним кето-

Таблиця 3. Азотистий та вуглеводний обмін у вмісті рубця
Table 3. Nitrogen and carbohydrate metabolism in rumen content

Показники Parameters	Групи корів / Groups of cows		
	клінічно здорові healthy	субклінічний кетоз subclinical ketosis	клінічний кетоз clinical ketosis
<i>Початок дослідження / The beginning of the experiment</i>			
Білковий азот, ммоль/л Protein nitrogen, mmol/l	58,45± ±4,76	52,33± ±5,11	45,27± ±3,18*
Мікробний азот, ммоль/л Microbial nitrogen, mmol/l	38,37± ±2,65	39,62± ±1,97	31,24± ±2,03*
ЛЖК, ммоль/л VFA, mmol/l	122,67± ±9,75	108,69± ±6,14	89,36± ±7,32**
Азот аміаку, ммоль/л Ammonia nitrogen, mmol/l	5,71± ±0,52	6,41± ±0,40*	7,63± ±0,29**
Лактат, ммоль/л Lactate, mmol/l	4,02± ±0,13	4,59± ±0,10*	5,27± ±0,06**
pH	6,70± ±0,11	6,79± ±0,15	6,78± ±0,17
<i>Кінець дослідження / The end of the experiment</i>			
Білковий азот, ммоль/л Protein nitrogen, mmol/l	57,28± ±3,98	55,81± ±3,14	50,42± ±2,81
Мікробний азот, ммоль/л Microbial nitrogen, mmol/l	36,83± ±1,77	37,55± ±2,05	35,89± ±3,12
ЛЖК, ммоль/л VFA, mmol/l	121,39± ±5,87	123,13± ±7,34#	107,75± ±4,67***
Азот аміаку, ммоль/л Ammonia nitrogen, mmol/l	5,24± ±0,43	5,11± ±0,29#	6,09± ±0,32#
Лактат, ммоль/л Lactate, mmol/l	4,32± ±0,27	4,65± ±0,19	4,96± ±0,06*
pH	6,63± ±0,07	6,67± ±0,09	6,73± ±0,12

зом, за клінічного кетозу в рубці зменшувався вміст білкового азоту ($P < 0,05$), що відбувалося за рахунок меншої кількості азоту клітин мікроорганізмів, тобто зменшення чисельності мікробіоти рубця. Враховуючи наведені у попередній таблиці дані про зростання в рубці протеолітичної активності, можна припустити, що це зменшення не стосувалося протеолітичних бактерій. Проте, з іншого боку, зростання протеолітичної активності може бути спричинене бактеріями гіперпродуцентами аміаку, для яких характерна невелика чисельність за дуже високої гідролітичної активності.

Відхилення виявили й у показниках вуглеводного обміну: вони проявились у меншій кількості летких жирних кислот та зростанні концентрації молочної кислоти. За субклінічного та клінічного кетозу концентрація летких жирних кислот у рубці знижувалась, відповідно, на 11,4% та 27,2%. Хоча статистично вірогідними ці зміни були лише у випадку клінічного кетозу ($P < 0,01$), кількісно зміни за субклінічної форми достатньо суттєві, що дозволяє стверджувати про певну тенденцію. На жаль, ми не мали змоги визначити концентрації окремих летких жирних кислот, що дало б детальнішу інформацію про вплив кетозу на ферментацію вуглеводів. Проте, з огляду на особливості ферментативної активності в рубці, можна зробити висновок, що у хворих на субклінічний кетоз корів пригнічувалось насамперед розщеплення крохмалю та цукрів, а в корів, хворих на клінічний кетоз, — крім крохмалю та цукрів, також і целюлози та геміцелюлози.

Концентрація лактату зросла за обох форм кетозу; за субклінічної форми вона була більшою на 14,2% ($P < 0,05$), а за клінічної — на 31,1% ($P < 0,01$), ніж у здорових тварин. Отже, незважаючи на зниження загальної амілолітичної активності в рубці хворих корів, молочнокисле бродіння у них посилювалось.

Згодовування лікувально-профілактичної добавки вплинуло на перебіг бродильних процесів у рубці. У хворих на кетоз корів, порівняно з коровами контрольної групи, виявлено більшу концентрацію аміаку та меншу кількість білкового азоту у вмісті рубця ($P < 0,05$). При цьому важливо, що в корів з клінічним кетозом відсутня різниця за вмістом мікробного азоту, тобто популяція бактерій у їхньому рубці вирівнялась зі значенням у здорових корів. Після згодовування лікувальної добавки показники рубцевої ферментації у хворих на субклінічний кетоз корів наблизились до показників здорових тварин, тоді як у корів з клінічним кетозом концентрація аміаку та білкового азоту відрізнялась від показників здорових тварин. Те саме стосується й лактату: його концентрація після лікування зменшувалась ($P < 0,05$), але надалі була вищою, ніж у здорових корів ($P < 0,05$).

Ми не виявили вірогідних різниць показників рН вмісту рубця хворих і здорових корів до та після лікування. Вочевидь, це зумовлено взаємнокомпенсаційними змінами концентрацій летких жирних кислот і лактату в рубці.

Висновки

Лікувально-профілактична добавка, яка містить подрібнені гранули шишок хмелю, вітамін Е та захищені від розщеплення у рубці холін, метіонін і карнітин, знижує концентрацію β -гідроксибутирату і збільшує концентрацію глюкози в крові корів. У корів із субклінічною формою кетозу нормалізувалися показники крові, а у хворих на клінічний кетоз корів захворювання перейшло в субклінічну форму.

У рубці хворих на кетоз корів виявлено пригнічення амілолітичної і ліполітичної та посилення протеолітичної активності. Досліджувана добавка пригнічує протеолітичну та посилює амілолітичну і целюлозолітичну активності в рубці корів.

За кетозу в рубці корів спостерігали зниження загальної концентрації летких жирних кислот та зростання концентрації аміаку і лактату. Лікувальна добавка нормалізує вказані показники у корів, хворих на субклінічний кетоз, та покращує стан корів з клінічною формою кетозу.

References

1. Almeida ADR, Maciel MVDOB, Machado MH, Bazzo GC, de Armas RD, Vitorino VB, Vitali L, Block JM, Barreto PLM. Bioactive compounds and antioxidant activities of Brazilian hop (*Humulus lupulus* L.) extracts. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2020; 55 (1): 340–347. DOI: 10.1111/ijfs.14311.
2. Blaxland JA, Watkins AJ, Baillie LWJ. The ability of hop extracts to reduce the methane production of *Methanobrevibacter ruminantium*. *Archaea.* 2021; 2021: 5510063. DOI: 10.1155/2021/5510063.
3. Briggs DE, Boulton CA, Brookes PA, Stevens RC. *Brewing Science and Practice*. London, CRC Press. 2004: 900 p. DOI: 10.1201/9780203024195.
4. Compton C, Young L, McDougall S. Efficacy of controlled-release capsules containing monensin for the prevention of subclinical ketosis in pasture-fed dairy cows. *New Zealand Vet. J.* 2015; 63 (5): 249–253. DOI: 10.1080/00480169.2014.999842.
5. Duffield TF, Merrill JK, Bagg RN. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *J. Anim. Sci.* 2012; 90 (12): 4583–4592. DOI: 10.2527/jas.2011-5018.
6. Duffield TF, Rabiee AR, Lean IJ. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. *J. Dairy Sci.* 2008; 91 (4): 1334–1346. DOI: 10.3168/jds.2007-0607.
7. Duffield TF, Rabiee AR, Lean IJ. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 3. Health and reproduction. *J. Dairy Sci.* 2008; 91 (6): 2328–2341. DOI: 10.3168/jds.2007-0801.
8. Fiore E, Perillo L, Gianesella M, Giannetto C, Giudice E, Piccione G, Morgante M. Comparison between two preventive treatments for hyperketonaemia carried out *pre-partum*: Effects on non-esterified fatty acids, β -hydroxybutyrate and some biochemical parameters during peripartum and early lactation. *J. Dairy Res.* 2021; 88 (1): 38–44. DOI: 10.1017/S0022029921000108.
9. 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.

10. Flythe MD, Aiken GE. Effects of hops (*Humulus lupulus* L.) extract on volatile fatty acid production by rumen bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 2010; 109 (4): 1169–1176. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2010.04739.x.
11. Flythe MD, Kagan IA, Wang Y, Narvaez N. Hops (*Humulus lupulus* L.) bitter acids: Modulation of rumen fermentation and potential as an alternative growth promoter. *Front. Vet. Sci.* 2017; 4: 131. DOI: 10.3389/fvets.2017.00131.
12. Harlow BE, Bryant RW, Cohen SD, O'Connell SP, Flythe MD. Degradation of spent craft brewer's yeast by caprine rumen hyper ammonia-producing bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 2016; 63 (4): 307–312. DOI: 10.1111/lam.12623.
13. Hausmann J, Deiner C, Patra AK, Immig I, Starke A, Aschenbach JR. Effects of a combination of plant bioactive lipid compounds and biotin compared with monensin on body condition, energy metabolism and milk performance in transition dairy cows. *PLoS ONE.* 2018; 13 (3): e0193685. DOI: 10.1371/journal.pone.0193685.
14. Hernández-Mendo O, Ramírez-Mella M, Ramírez-Briebesca JE, Crosby-Galván MM, Burgueño-Ferreira JA. Effect of vitamin E on ruminal fermentation and nutrient digestion in steers supplemented with microencapsulated conjugated linoleic acid. *Anim. Nutr. Feed Techn.* 2017; 17 (2): 293–301. DOI: 10.5958/0974-181X.2017.00028.2.
15. Humer E, Bruggeman G, Zebeli Q. A meta-analysis on the impact of the supplementation of rumen-protected choline on the metabolic health and performance of dairy cattle. *Animals (Basel).* 2019; 9 (8): E566. DOI: 10.3390/ani9080566.
16. Jayaprakash G, Sathiyabarathi M, Robert MA, Tamilmani T. Rumen-protected choline: A significance effect on dairy cattle nutrition. *Vet. World.* 2016; 9 (8): 837–841. DOI: 10.14202/vetworld.2016.837-841.
17. Karabín M, Hudcová T, Jelínek L, Dostálek P. Biologically active compounds from hops and prospects for their use. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2016; 15 (3): 542–567. DOI: 10.1111/1541-4337.12201.
18. Karabin M, Hudcova T, Jelinek L, Dostalek P. Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. *Biotech. Adv.* 2015; 33 (6/2): 1063–1090. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.02.009.
19. Mammi LME, Guadagnini M, Mechor G, Cainzos JM, Fusaro I, Palmonari A, Formigoni A. The use of monensin for ketosis prevention in dairy cows during the transition period: a systematic review. *Animals (Basel).* 2021; 11 (7): 1988. DOI: 10.3390/ani11071988.
20. 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.
21. McCarthy MM, Yasui T, Ryan CM, Mechor GD, Overton TR. Performance of early-lactation dairy cows as affected by dietary starch and monensin supplementation. *J. Dairy Sci.* 2015; 98 (5): 3335–3350. DOI: 10.3168/jds.2014-8820.
22. Meyer J, Daniels SU, Grindler S, Tröscher-Mußotter J, Alaedin M, Frahm J, Hütner L, Kluess J, Kersten S, von Soosten D, Meyer U, Most E, Eder K, Sauerwein H, Seifert J, Huber K, Rehage J, Dänicke S. Effects of a dietary L-carnitine supplementation on performance, energy metabolism and recovery from calving in dairy cows. *Animals (Basel).* 2020; 10 (2): E342. DOI: 10.3390/ani10020342.
23. Mukai R. Prenylation enhances the biological activity of dietary flavonoids by altering their bioavailability. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2018; 82 (2): 207–215. DOI: 10.1080/09168451.2017.1415750.
24. Mullins CR, Mamedova LK, Brouk MJ, Moore CE, Green HB, Perfield KL, Smith JF, Harner JP, Bradford BJ. Effects of monensin on metabolic parameters, feeding behavior, and productivity of transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2012; 95 (3): 1323–1336. DOI: 10.3168/jds.2011-4744.
25. Nemzer BV, Rodriguez LC, Hammond L, DiSilvestro R, Hunter JM, Pietrzkowski Z. Acute reduction of serum 8-iso-PGF2-alpha and advanced oxidation protein products *in vivo* by a polyphenol-rich beverage; a pilot clinical study with phytochemical and *in vitro* antioxidant characterization. *Nutr. J.* 2011; 10 (1): 67. DOI: 10.1186/1475-2891-10-67.
26. Pirestani A, Aghakhani M. The effects of rumen-protected choline and L-carnitine supplementation in the transition period on reproduction, production, and some metabolic diseases of dairy cattle. *J. Appl. Anim. Res.* 2018; 46 (1): 435–440. DOI: 10.1080/09712119.2017.1332632.
27. Raboisson D, Barbier M. Economic synergy between dry cow diet improvement and monensin bolus use to prevent subclinical ketosis: An experimental demonstration based on available literature. *Front. Vet. Sci.* 2017; 4: 35. DOI: 10.3389/fvets.2017.00035.
28. Ringseis R, Keller J, Eder K. Regulation of carnitine status in ruminants and efficacy of carnitine supplementation on performance and health aspects of ruminant livestock: a review. *Arch. Anim. Nutr.* 2018; 72 (1): 1–30. DOI: 10.1080/1745039X.2017.1421340.
29. Roehrer S, Behr J, Stork V, Ramires M, Médard G, Frank O, Kleigrew K, Hofmann T, Minceva M. Xanthohumol C, a minor bioactive hop compound: Production, purification strategies and antimicrobial test. *J. Chromatogr. B.* 2018; 1095: 39–49. DOI: 10.1016/j.jchromb.2018.07.018.
30. Sachko S, Vudmaska I. Use of hop cones and vitamin E to prevent metabolic disorders in transition dairy cows. Proceedings of the XIX Middle-European Buiatrics Congress, May 22–25, 2019, Lviv, Ukraine. *Biol. Tvarin.* 2019; 21 (2): 132.
31. Sandoval-Acuña C, Ferreira J, Speisky H. Polyphenols and mitochondria: an update on their increasingly emerging ROS-scavenging independent actions. *Arch. Biochem. Biophys.* 2014; 559: 75–90. DOI: 10.1016/j.abb.2014.05.017.
32. Sendamangalam V, Choi OK, Kim D, Seo Y. The anti-biofouling effect of polyphenols against *Streptococcus mutans*. *Biofouling.* 2011; 27 (1): 13–19. DOI: 10.1080/08927014.2010.535897.
33. Shahsavari A, D'Occhio MJ, Al Jassim R. The role of rumen-protected choline in hepatic function and performance of transition dairy cows. *Brit. J. Nutr.* 2016; 116 (1): 35–44. DOI: 10.1017/S0007114516001641.
34. Vlizlo VV, Fedoruk RS, Ratych IB. *Laboratory Research Methods in Biology, Stockbreeding and Veterinary Medicine.* A handbook. Lviv, Spolom publ., 2012: 355–368.
35. 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.
36. Zahra LC, Duffield TF, Leslie KE, Overton TR, Putnam D, LeBlanc SJ. Effects of rumen-protected choline and monensin on milk production and metabolism of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2006; 89 (12): 4808–4818. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72530-9.
37. Zanoli P, Zavatti M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. *J. Ethnopharmacol.* 2008; 116 (3): 383–396. DOI: 10.1016/j.jep.2008.01.011.
38. Zhou Z, Vailati-Riboni M, Trevisi E, Drackley JK, Luchini DN, Loor JJ. Better postpartal performance in dairy cows supplemented with rumen-protected methionine compared with choline during the peripartal period. *J. Dairy Sci.* 2016; 99 (11): 8716–8732. DOI: 10.3168/jds.2015-10525.
39. Zmora P, Cieslak A, Jedrejek D, Stochmal A, Pers-Kamczyc E, Oleszek W, Nowak A, Szczechowiak J, Lechniak D, Szumacher-Strabel M. Preliminary *in vitro* study on the effect of xanthohumol on rumen methanogenesis. *Arch. Anim. Nutr.* 2012; 66 (1): 66–71. DOI: 10.1080/1745039X.2011.644917.
40. Zugravu CA, Bohiltea RE, Salmen T, Pogurschi E, Otelea MR. Antioxidants in hops: bioavailability, health effects and perspectives for new products. *Antiox. (Basel).* 2022; 11 (2): 241. DOI: 10.3390/antiox11020241.

The effect of therapeutic feed additive on rumen fermentation in cows with ketosis

S. R. Sachko

sa4ko_sergyn@ukr.net

Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

It is known that ionophoric antibiotics regulate ruminal fermentation, improve the utilization of feed protein, and prevent the occurrence of ketosis and steatosis in ruminants. Ionophoric antibiotics and β -acids of hops have a similar spectrum of biological activity, that is, they inhibit the vital activity of most gram-positive microorganisms of the rumen. Bacteria, like other living organisms, need vitamin E as an active antioxidant for cell membranes. The toxicity of tocopherol is very low, so adding it to the diet of ruminants in larger quantities can stimulate cellulolytic rumen bacteria and compensate for the negative effect of ionophores on fiber breakdown. Since rumen bacteria break down a significant part of dietary choline, methionine and carnitine, ruminants must receive them in a protected form, so their influence on rumen fermentation is insignificant. Three groups of cows of the Ukrainian dairy black-spotted breed with milk yields of 5 or more thousand kg during the previous lactation were formed: with signs of clinical ketosis — 4 animals; with subclinical ketosis — 5 animals and clinically healthy — 5 animals. For a month, cows with ketosis were given a treatment supplement containing crushed granules of hop cones (20 g), vitamin E (3 g), and rumen protected choline (50 g), methionine (20 g) and carnitine (1 g). Clinically healthy cows were used as control. In the blood of cows with subclinical ketosis, the additive increased the concentration of glucose and decreased the concentration of β -hydroxybutyrate, these indicators were within the normal range. In cows with symptoms of clinical ketosis, using of the feed additive also reduced the concentration of β -hydroxybutyrate ($P < 0.01$), but it was still higher than normal. In sick cows, amylolytic and lipolytic activity was lower than in healthy cows ($P < 0.05-0.01$). Celluloselytic activity was lower only in cows with clinical ketosis. The proteolytic activity of rumen content changed in the opposite way; it was higher in sick cows ($P < 0.05-0.01$). This is a consequence of the increase in the number and activity of hyper producing ammonia bacteria in the rumen, what is characteristic for ketosis. After treatment of cows with subclinical ketosis, the cellulolytic and amylolytic activities in the rumen fluid were equal to the corresponding indicators of healthy cows, and the proteolytic activity was even slightly lower ($P < 0.05$) than in the control group. Treatment of cows with clinical form of ketosis was not as effective, although the general trends remained. During subclinical and clinical ketosis, a greater amount of ammonia was found in the rumen fluid ($P < 0.05-0.01$), because of higher proteolytic activity. In both forms of ketosis, the concentration of volatile fatty acids in the rumen decreased, and the concentration of lactate increased ($P < 0.05-0.01$). After the treatment, these indicators in cows with subclinical ketosis approached the healthy animals, while the condition of cows with clinical ketosis improved, but the concentration of ammonia continued to differ from healthy animals.

Key words: cows, ketosis, rumen, hop cones, vitamin E