

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)

Ковальскі 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: (+38 032) 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.
Тел. / Факс: (+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 4 ▪ Issue DOI: 10.15407/animbiol23.04

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)
Liliiia Kalachniuk, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Ukraine)
Czesław Klocek, 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>Mushtuk I. Yu., Ayshpur O. Y., Yermolenko O. M., Tarasov O. A., Gumeniuk V. V.</i> Manifestation of proliferative enteropathy of pigs (ileitis) in pig farms of Ukraine (diagnostic monitoring).....	3
<i>Сахацький М. І., Осадча Ю. В.</i> Реалізація потенційної продуктивності курей за впливу величини угруповання	8
<i>Борщ О. О., Рубан С. Ю., Борщ О. В., Федорченко М. М.</i> Вплив використання засобів охолодження повітря у легкозбірних приміщеннях на показники поведінки та комфорту корів за високих температур навколишнього середовища	15
<i>Ткачова І. В., Фролова Г. О.</i> Генеалогічні лінії в орловській рисистій породі коней української частини популяції	20
<i>Mitioglo I. D.</i> Поліморфізм гена бета-лактоглобуліну (BLG) у корів молочних порід української і зарубіжної селекції	27
<i>Караваєв В. В., Качмарик Д. Ю., Череватов В. Ф., Язловицька Л. С.</i> Вплив температури зимівлі на стан антиоксидантої системи <i>Apis mellifera</i> L.	32
<i>Кеця О. В., Капітанчук І. Ю.</i> Біохімічні маркери функціонального стану гепатобіліарної системи щурів за дії лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот	43
<i>Чорна І. В., Дроник Г. В., Куліш В. І.</i> Біохімічні маркери функціонального стану печінки у сироватці крові щурів за дії гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Раундап»	49
<i>Pirlog A., Carapirea A., Darie G., Cibotaru E., Chiselița O.</i> The influence of biologically active preparations on the reproductive qualities of sows	54
<i>Довганюк В. В., Росаловський В. П., Салига Ю. Т.</i> Стан системи антиоксидантного захисту у риб <i>Danio rerio</i> за інтоксикації хлорпірифосом	59
<i>Чечет О. М., Коваленко В. Л., Гаркавенко Т. О., Горбатюк О. І., Козицька Т. Г.</i> Ефективність робочих розчинів дезінфекційного засобу «Біолайд» за дії на грамнегативні та грампозитивні бактерії	66
<i>Захарів О. Я., Вудмаска І. В., Петрук А. П.</i> Вплив техногенного навантаження Бурштинської ТЕС на овець різних вікових груп	73

CONTENTS

<i>Mushtuk I. Yu., Ayshpur O. Y., Yermolenko O. M., Tarasov O. A., Gumeniuk V. V.</i> Manifestation of proliferative enteropathy of pigs (ileitis) in pig farms of Ukraine (diagnostic monitoring).....	3
<i>Sakhatsky M., Osadcha Yu.</i> Realization of hens' potential productivity under the influence of group size	8
<i>Borshch O. O., Ruban S. Yu., Borshch O. V., Fedorchenko M. M.</i> Influence of the use of air cooling means in easily assembled premises on the behavior and comfort of cows during high temperatures	15
<i>Tkachova I. V., Frolova A. A.</i> Genealogical lines in the Orlov Trotter breed horses of the Ukrainian part of the population	20
<i>Mitioglo I.</i> Beta-lactoglobulin (BLG) gene polymorphism in Ukrainian and foreign cows	27
<i>Karavan V. V., Kachmaryk D. Yu., Cherevatov V. F., Yazlovytska L. S.</i> Influence of wintering temperature on the state of the antioxidative system in <i>Apis mellifera</i> L.	32
<i>Ketsa O. V., Kapitanchuk I. Y.</i> Biochemical markers of hepatobiliary system functional state in rats under the action of laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids	43
<i>Chorna I. V., Dronic G. V., Kulish V. I.</i> Biochemical markers of the functional state of liver in blood serum of rats consuming glyphosate-resistant genetically modified soybean and herbicide "Roundup"	49
<i>Pirlog A., Carapirea A., Darie G., Cibotaru E., Chiselița O.</i> The influence of biologically active preparations on the reproductive qualities of sows	54
<i>Dovhaniuk V. V., Rosalovsky V. P., Salyha Yu. T.</i> State of the antioxidant system in <i>Danio rerio</i> fish due to the chlorpyrifos intoxication.....	59
<i>Chechet O. N., Kovalenko V. L., Garkavenko T. O., Gorbatyuk O. I., Kozyska T. H.</i> Efficiency of "Biolide" disinfectant working solutions for action on gram-negative and gram-positive bacteria	66
<i>Zakhariv O. Ya., Vudmaska I. V., Petruk A. P.</i> Influence of Burshtyn thermal power plant emissions on sheep at different age	73



Manifestation of proliferative enteropathy of pigs (ileitis) in pig farms of Ukraine (diagnostic monitoring)

I. Yu. Mushtuk, O. Y. Ayshpur, O. M. Yermolenko, O. A. Tarasov, V. V. Gumeniuk

mushtuk0104@gmail.com, olenaayshpur@gmail.com, alex-dndi@ukr.net

The Institute of Veterinary Medicine NAAS,
30 Donetska str., Kyiv, 03151, Ukraine

Proliferative enteropathy of pigs (PPE; ileitis, lawsoniosis) is one of the most common, relatively new and little-studied gastrointestinal diseases of pigs which cause significant economic damage to the pig industry worldwide. The causative agent of ileitis is *Lawsonia intracellularis*, a gram-negative intracellular bacterium. The incubation period lasts from two to three weeks, the infection has a high degree of infection. The pathogen is transmitted from animal to animal by oral and fecal route. In order to study the manifestations of proliferative enteropathy of pigs on farms in Ukraine, we surveyed 32 farms in 13 regions. The course of PPE was usually observed with symptoms of gastrointestinal disorders, but the disease brought significant economic losses. A characteristic symptom of the chronic course in the studied farms of Ukraine is a slow but progressive weight loss of animals and, as a result, diarrhea and loss of appetite. Clinical signs of ileitis depend on the form of the course. There are three main forms of ileitis: chronic form — intestinal adenomatosis, acute — hemorrhagic enteropathy and subclinical form. According to our research, the acute form is manifested by pale skin and signs of anemia, hemorrhagic diarrhea and sudden death of the animal. Pigs weighing more than 70 kg suffer the most. The pathological picture characteristic of PPE was observed already at the age of 33 days; 62.5% of the dead piglets aged 33 to 102 days were affected by *Lawsonia*, which was confirmed by laboratory tests. Pathological examination was observed in the dead pigs of the rearing and fattening group: duodenum — part initially covered with mucus-fibrin; ileum — thickening of the walls, on the serous membrane dark red grooves like a mosaic, dark blood, blood coagulates cylindrical forms; mucous membrane is uneven, thickened, intensely red; colon — stretched through gases, blood dark with coagulates in the lumen; rectum — the contents are thick to semi-liquid, dark red; mesenteric lymph nodes — enlarged and hyperemic. Pathohistological changes in the intestine varied. In some parts of the intestine, there were characteristic of ulcerative necrotic ileitis, and in others — for proliferative enteropathy.

Key words: proliferative enteropathy (ileitis), diarrhea, pigs, *Lawsonia intracellularis*

Porcine proliferative enteropathy (PPE; ileitis, lawsoniosis) is one of the most common, relatively new and poorly studied gastrointestinal disease of pigs, causing significant economic losses of the pig industry worldwide [1].

The main causative agent of ileitis is *Lawsonia intracellularis* — a gram-negative intracellular bacterium. It penetrates the intestinal mucosa of the terminal part of ileum intestine and causes excessive reproduction of enterocytes. As a result, there is a thickening of the intestine and a decrease in resorption processes appears, which leads to a disorder of the gastrointestinal tract [3–5, 7].

The incubation period is considered to be between two and three weeks. The pathogen is transmitted

from animal to animal by oral and faecal transmission. The piglets that are still drinking the milk can become infected after having a contact with the sow's faeces. PPE is transmitted through the birds, rodents, various equipment for animal's care, transport.

There are clinical forms of of ileitis: chronic form which is an intestinal adenomatosis, incisive which is a haemorrhagic enteropathy and subclinical form (table 1).

Lawsonia can occur worldwide, especially in the countries and regions where pigs are intensively farmed. It does not matter whether there is intensive or extensive form of farming, and what are the differences in technological processes and capacities [2, 6, 8, 9].

Table 1. Pathological changes in PPE depending on the location of the lesions

Pathological diagnosis	Pathological changes
Porcine intestinal adenomatosis (PIA)	Abnormal proliferation of cells of the intestine submucosal layer
Necrotic enteritis (NE)	The destruction of cells after proliferation, the intestinal wall becomes thin
Regional ileitis (RI)	Inflammation of the terminal part of the small intestine
Porcine hemorrhagic enteropathy (PHE)	Bleeding in the small intestine

The economical losses of ileitis in subclinical and clinical forms are very significant and depend on the age and number of infected animals and the level of morbidity.

Recent analysis confirmed that from 30% to 100% of farms have been infected with the *Lawsonia intracellularis*. For the farms the morbidity varies from 12% to 26.5%. According to the other sources, the infection level can even reach 30–70% of pig population. The lethality among affected pigs is higher than 40%. The spreading of the disease and high level of transmission lies upon the risks of endemic spreading [10, 12].

This paper presents the results of the studies of proliferative enteropathy spreading in pigs in Ukrainian farms, the first cases of which are described here in 2008–2009.

According to our research, 653 blood serum samples of pigs of different age groups from 17 domestic farms with a population of 40,456 sows revealed 46.4% of seropositive animals. Seropositive pigs were found in all analysed farms, namely 74.0% among sows, 79.6% among repair pigs, 2.5% among piglets for rearing and 59.8% among pigs for fattening. The epizootic situation in the country requires detailed assessment and in-depth analysis [11].

The aim of our work was to study the manifestation of proliferative enteropathy of pigs (ileitis) on farms in Ukraine.

Materials and Methods

The research was conducted in the laboratory of bacterial diseases of animals in the Institute of Veterinary Medicine NAAS and in some pig farms in Ukraine. During the research studies, 32 farms of 13 districts were surveyed. The research was conducted on pig farms of different capacity using different technologies of pig breeding. Pathohistological examinations were performed in three basic farms with a full cycle of degeneration of pigs in Donetsk (population of 90 thousand pigs), Cherkasy (population of 20 thousand pigs), and Kirovohrad regions (population of 60 thousand pigs).

These farms grow pigs of the following breeds: Large White, Landrace, Duroc and local breeding.

The diagnosis on proliferative enteropathy was established comprehensively on the basis of epizootological, clinical, pathological and laboratory tests. The biological samples were obtained from slaughtered pigs of different age groups (from the age of 21 days till the end of fattening) with the characteristic signs of ileitis.

Clinical studies of pigs were conducted according to generally accepted methods in the practice of veterinary medicine, taking into account the technology of pig breeding, feeding conditions, the state of implementation of sanitary and hygienic rules for keeping animals, which are the risk factors of the appearance and development of a disease.

The necropsy of dead pigs was performed by the method of post-mortem examination. Samples for histological/histopathological tests were taken from the ileocecal foramen (first sample), in 5 cm from the base (beginning) of the cecum (second sample) and in 10 cm from the upper proximal part of the colon (third sample). The samples for histological examination were carefully placed in a 10% buffered formaldehyde solution preserving sensitive surface of the mucosa. All the samples were marked for further identification. The samples were poured into paraffin. The sections 4–5 μm thick were sliced and stained with hematoxylin and eosin die according to the classic protocol.

Results and Discussion

Epidemiological monitoring, clinical and pathological studies on the proliferative enteropathy (PPE) among pig population in Ukrainian farms were conducted (fig. 1).

The course of PPE was usually observed without any specific symptoms, but the disease inflicts significant economic losses. One of the typical signs of the chronic course in the observed farms of Ukraine was



Fig. 1. Regions of Ukraine covered by monitoring studies for proliferative enteropathy of pigs

a progressive decrease of body weight in animals because of the diarrhoea and refusal of feed. In some cases, the disease was accompanied by fever, abortion of sows or sudden death. Such different symptoms were observed in each study pig farms where ileitis was diagnosed.

The animals with the signs of anorexia, marbled mucous membranes, dark blood around the anus died within 6 hours after manifestations of diarrhoea symptoms (fig. 2–3).

Necropsy revealed the symptoms in the pigs of the rearing and fattening group: the initial part of the thin intestine was covered with mucus-fibrin plaques; ileum had the thickening of the intestinal walls, local haemorrhagic spots on the serous membrane. Coagulated blood had the cylindrical form of clots; mucous membrane was uneven, thickened, intensely red staining. The colon was stretched, dark red with coagulated blood traces in the lumen. The rectum content was from a thick to a semi-liquid with a dark red colour. The mesenteric lymph nodes were enlarged and hyperaemic (fig. 4–5).

The pathological signs were typical for PPE and were detected in pigs at the age of 33 days; 62.5% of the dead piglets infected by *Lawsonia* were between 33 to 102 days old, which was confirmed by laboratory tests. The affected intestines were taken from 44 dead piglets of the rearing (n=24) and fattening groups (n=20), 63.6% had ileitis signs and 36.4% had intestinal haemorrhagic lesions.

The pathohistological changes of intestine varied by the severity of disease. In some sections of the intestine they were typical for ulcerative necrotic ileitis or for proliferative enteropathy.

The pathohistological studies of the thick intestine revealed the enterocytes desquamation in the cilia apical parts, the enterocytes proliferation near the basement membrane and the number of goblet cells was decreased. Thickening of the intestinal wall occurs due to the proliferate cells accumulation in a mucous membrane as well as the intense lymphoid cells infiltration. These processes accompanied by the hypoxia: vessels are empty containing only single erythrocytes. The reduced activity of intestinal lymph follicles was detected, and their centres were enlightened and empty (fig. 6).

The germinal layer the crypts contained a large number of goblet cells as well as the malformation of the retention cysts.

The pathomorphological changes were found in the intestines of piglets infected with *Lawsonia intracellularis*: villous and almost absent of a coagulation necrosis, decrease of villous size; the inflammation process was localised in the form of infiltration mainly with histiocytes and in less numbers of leukocytes, eosinophils, neutrophils. The crypts were compressed by the cells due to enterocytes proliferation. A significant reduction in goblet-like cells or their absence was detected. Smooth muscle cells were hypertrophied, swollen, inflamed. Peyer's patches in the crypt, manifestation



Fig. 2. Uneven livestock due to ileitis



Fig. 3. Pig's diarrhoea: from liquid to watery feces (chronic form of ileitis)

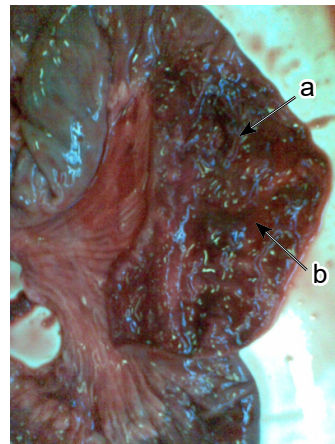


Fig. 4. Ileum. Thickened walls, dark red color, blood coagulation (a); the mucous membrane is uneven, thickened, hyperemic (b). Pig's age is 125 days

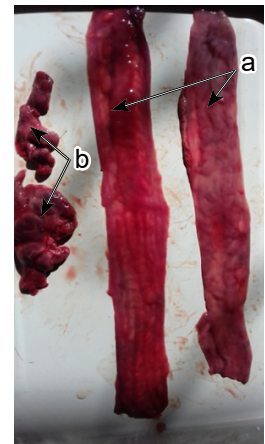


Fig. 5. The pig's ileum is thickened due to proliferative enteropathy caused by *Lawsonia intracellularis* (a). Mesenteric lymph nodes are enlarged and hyperemic (b). Pig's age is 75 days

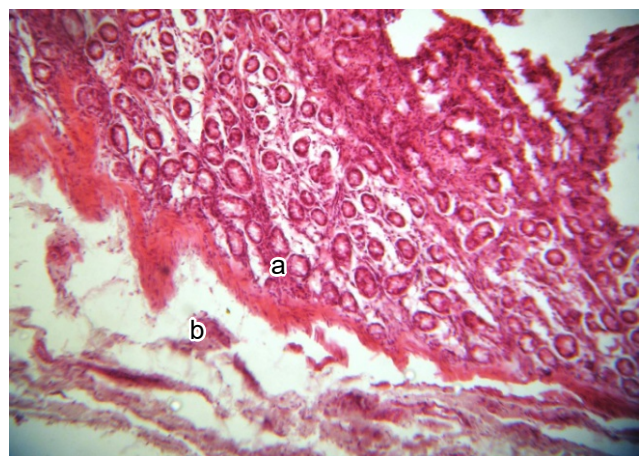


Fig. 6. Fragment of the colon wall near the ileocecal opening in 145-day-old piglets. a — intestinal wall; b — transudation of the submucosal layer of the intestine

of necrosis, haemorrhage, granulosa infiltrate, other intestine lesions including haemorrhagic necrosis, swelling of mucosal and submucosal layer were detected during our studies.

Histological tests are important diagnosing approach for detecting heavy pathological changes in the intestinal system of infected pigs.

According to foreign researchers, the disease is widespread in all countries of the world, where the pig industry is developed. Proliferative enteropathy (ileitis) in pigs is one of the most common diseases of the digestive tract which affects piglets of older rearing and fattening groups. It is associated with significant economic losses which are expressed in the animals' mortality, reduced growth rates, the impact on feed conversion, the cost of control measures.

Prevention of infectious gastrointestinal diseases, including ileitis, in pigs is of great importance. In order to prevent ileitis, along with specific prevention and therapy, there should also be organizational, economic, technological, veterinary, zootechnical and other measures aimed at increasing the overall resistance of animals. Also, the maximum reduction in the concentration of microorganisms — pathogens in the premises.

Common risk factors for proliferative enteropathy in pigs are constant filling of the pigsty without sanitary breaks, poor hygiene, unperforated floors in the premises. Stress (transportation, high housing density, herd regrouping, etc.) further reduces the immunity of animals. Insufficiently satisfactory conditions in the premises (cold, drafts), poor quality feed or a sharp change in their composition are also risk factors.

Suitable chemotherapeutics for the prevention and treatment of PPE are tiamulin, tetracyclines and macrolides. Resistance to *Lawsonia intracellularis* is an exceptional phenomenon due to the inability to transmit resistance by non-chromosomal means. A live vaccine is used to prevent *Lawsonia intracellularis*-induced gastrointestinal upset syndrome in pigs.

Conclusion

1. Conducted diagnostic monitoring of proliferative enteropathy of pigs on farms in Ukraine and proved the significant spread of the disease, which causes significant damage to the domestic pig industry.

2. Pathological examinations of dead piglets revealed that suckling piglets have no signs of ileitis, the pathological picture characteristic of PPE is observed at 33 days of age; 62.5% of the dead piglets aged 33 to 102 days were affected by *Lawsonia*.

3. The results of histopathological studies indicate that the causative agent of ileitis *Lawsonia intracellularis* causes profound pathological changes in the digestive tract of pigs, which affects the functioning of all organs and tissues of animals, which lead to severe disease and death of animals.

Prospects of Further Research

The choice of research work is due to insufficient study of the disease and presents the results of research, including epizootological monitoring, clinical signs, pathomorphological changes, diagnosis, development of measures to prevent and control PPE in pig farms in Ukraine. The domestic pig industry suffers from diseases of infectious etiology. PPE also belongs to economically significant diseases. Therefore, the study of the epizootic state of PPE in pig farms in Ukraine, methods of its diagnosis are relevant and promising for solving problems of prevention and control of the disease.

1. Arnold M, Crienen A, Swam H, von Berg S, Jolie R, Nathues H. Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in pig herds in different European countries. *Porc. Health Management*. 2019; 5 (1): 31. DOI: 10.1186/s40813-019-0137-6.
2. Guedes RM, Machuca MA, Quiroga MA, Pereira CER, Resende TP, Gebhart CJ. *Lawsonia intracellularis* in pigs: progression of lesions and involvement of apoptosis. *Vet. Pathol*. 2017; 54 (4): 620–628. DOI: 10.1177/0300985817698206.
3. Jacobs AAC, Harks F, Hazenberg L, Hoeijmakers MJH, Nell T, Pel S, Segers RPAM. Efficacy of a novel inactivated *Lawsonia intracellularis* vaccine in pigs against experimental infection and under field conditions. *Vaccine*. 2019; 37 (15): 2149–2157. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.02.067.
4. Karuppanan AK, Opriessnig T. *Lawsonia intracellularis*: revisiting the disease ecology and control of this fastidious pathogen in pigs. *Front. Vet. Sci*. 2018; 5: 181. DOI: 10.3389/fvets.2018.00181.
5. Leite FL, Abrahante JE, Vasquez E, Vannucci F, Gebhart CJ, Winkelman N, Mueller A, Torrison J, Rambo Z, Isaacson RE. A cell proliferation and inflammatory signature is induced by *Lawsonia intracellularis* infection in swine. *Amer. Soc. Microbiol*. 2019; 10 (1): e01605–18. DOI: 10.1128/mBio.01605-18
6. Pérez Gaudio DS, Martínez G, Fernández Paggi MB, Decundo JM, Romanelli A, Dieguez SN, Soraci AL. *Ex vivo* penetration of fosfomycin into healthy and *Lawsonia intracellularis*-colonized swine intestinal mucosa. *J. Vet. Pharmacol. Ther*. 2018; 41 (6): 878–886. DOI: 10.1111/jvp.12687.
7. Resende TP, Pereira CER, Daniel AGS, Vasquez E, Saqui-Salces M, Vannucci FA, Gebhart CJ. Effects of *Lawsonia intracellularis* infection in the proliferation of different mammalian cell lines. *Vet. Microbiol*. 2019; 228: 157–164. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.11.029.
8. Visscher C, Kruse A, Sander S, Keller C, Mischok J, Tabeling R, Henne H, Deitmer R, Kamphues J. Experimental studies on effects of diet on *Lawsonia intracellularis* infections in fattening boars in a natural infection model. *Acta Vet. Scand*. 2018; 60 (1): 22. DOI: 10.1186/s13028-018-0378-4.
9. Visscher C, Mischok J, Sander S, Schmicke M, Peitzmeier EU, von dem Busche I, Rohn K, Kamphues J. Nutrient digestibility, organ morphometry and performance in vaccinated or non-vaccinated *Lawsonia intracellularis* infected piglets. *BMC Vet. Res*. 2018; 14 (1): 323. DOI: 10.1186/s12917-018-1662-2.
10. Yeh JY, Ga AR. Systemic cytokine response in pigs infected orally with a *Lawsonia intracellularis* isolate of South Korean origin. *J. Vet. Med. Sci*. 2018; 80 (1): 13–19. DOI: 10.1292/jvms.17-0036.
11. Yermolenko OM, Ayshpur OY, Mushtuk IY, Gumeniuk VV, Ukhovskiy VV, Hlebeniuk VV. *Lawsonia intracellularis* seroprevalence among the pig farm livestock of Ukraine. *Theor. Appl. Vet. Med*. 2020; 8 (4): 260–264. DOI: 10.32819/2020.84038.
12. Yermolenko OM, Ayshpur OY, Mushtuk IY, Gumeniuk VV, Ukhovskiy VV, Tarasov OA, Ukhovska TM, Utechenko MV. Histopathological changes in pigs infected with ileitis. *Ukr. J. Ecol*. 2020; 10 (4): 72–77. DOI: 10.15421/2020_170.

Прояви проліферативної ентеропатії свиней (ілеїту) у свиногосподарствах України (діагностичний моніторинг)

I. Ю. Муштук, О. Є. Айшпур, О. М. Єрмоленко, О. А. Тарасов, В. В. Гуменюк
mushtuk0104@gmail.com, olenaayshpur@gmail.com, alex-dndi@ukr.net

Інститут ветеринарної медицини НААН,
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

Проліферативна ентеропатія свиней (ПЕС; ілеїт, лавсоніоз) є однією із найпоширеніших, відносно нових та маловивчених шлунково-кишкових хвороб свиней, які завдають значних економічних збитків галузі свинарства у всьому світі. Збудник ілеїту — *Lawsonia intracellularis* — грамнегативна внутрішньоклітинна бактерія. Інкубаційний період становить від двох до трьох тижнів, інфекція має високий ступінь зараження. Збудник передається від тварини до тварини орально-фекальним шляхом. З метою вивчення проявів проліферативної ентеропатії свиней на фермах України було обстежено 32 господарства 13-ти областей. Перебіг ПЕС зазвичай мав симптоми розладу шлунково-кишкового тракту, проте хвороба завдавала значних економічних збитків. Характерний симптом хронічного перебігу в досліджуваних господарствах України — повільне, але прогресивне зменшення маси тіла тварин як результат діареї і зниження апетиту. Клінічні ознаки ілеїту залежать від форми перебігу. Розрізняють основні три форми перебігу ілеїту: хронічна форма — кишковий адематоз; гостра — геморагічна ентеропатія; субклінічна форма. Згідно з нашими дослідженнями, прояви гострої форми — блідість шкіри та ознаки анемії, геморагічна діарея та раптова смерть тварини. Найбільше потерпають свині масою тіла понад 70 кг. Патологоанатомічну картину, характерну для ПЕС, спостерігали вже у 33-денному віці; 62,5% у патрозтині загиблих поросят віком від 33 до 102 днів уражені лавсонією, що було підтверджено лабораторними дослідженнями. За патологоанатомічного дослідження у загиблих свиней групи дорощування та відгодівлі спостерігали: дванадцятипала кишка — частина на початку вкрита слизо-фібрином; клубова кишка — потовщення стінок, на серозній оболонці темно-червоні борозенки у формі мозаїки, кров темна, кров'яні коагуляти циліндричної форми, слизова оболонка нерівна, потовщена, інтенсивно червона; ободова кишка — розтягнута через гази, кров темна з коагулятами в просвіті; пряма кишка — вміст густий до напіврідкого, темно-червоний. Мезентеріальні лімфовузли збільшені та гіперемовані. Патологістологічні зміни у кишечнику були різноманітними. В одних ділянках кишечнику вони були характерними для виразково-некротичного ілеїту, а в інших — для проліферативної ентеропатії.

Ключові слова: проліферативна ентеропатія (ілеїт), діарея, свині, *Lawsonia intracellularis*



Реалізація потенційної продуктивності курей за впливу величини угруповання

М. І. Сахацький, Ю. В. Осадча

seledat@ukr.net

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

Параметри розміру угруповання курей-несучок промислового стада в клітках не передбачені чинними вітчизняними нормами. За рекомендаціями розробника кросу, вони мають налічувати не менше 7 голів, хоча на практиці досягають 100 голів, тому потребують уточнення під час використання 12-ярусних кліткових батарей класичних конструкцій. Мета досліджень — вивчити вплив величини угруповання курей на їхню продуктивність за умови однакової щільності посадки несучок у клітках-аналогах за конструкцією. Для цього в умовах сучасного комплексу з виробництва харчових яєць сформували 4 групи курей, кожна з яких утримували в окремому пташнику-аналогі за площею та устаткуванням, обладнаному 12-ярусними клітковими батареями, розмір кліток в яких різнився. Угрупування курей у кожній клітці 1-ї групи налічувало 93, 2-ї — 52, 3-ї — 17 та 4-ї — 9 голів. Максимальну реалізацію продуктивності курей-несучок сучасних білояєчних кросів під час їх утримання у клітках 12-ярусних кліткових батарей спостерігали за угруповань по 52–93 голови, що дає можливість за 44-тижневий період використання додатково отримувати 13,3–48,2 млн. яєць з кожного пташника (4,5–16,5 тис. шт. з 1 м² його площі) порівняно з групами по 9 голів за вищого рівня європейського коефіцієнта ефективності їх виробництва на 1,6–2,8 од. Показано, що розмір угруповання 17 голів є недостатнім для формування стратегії соціальної толерантності в курей і супроводжується стресовими станами, що проявляється зниженням збереженості поголів'я на 1,7–2,1%, маси тіла — на 2,6–3,4%, несучості на початкову несучку — на 3,9–8,4% і на середню — на 4,3–4,4%, а також зниженням витрат корму на 1,5–1,6%, що зумовлює зменшення валового виходу яєць на 4,4–39,3 млн. шт. і яйцемаси — на 291,9–2508,6 т з кожного пташника, у тому числі на 1,5–13,5 тис. шт. та 100,1–860,6 кг з 1 м² його площі, зменшення виходу яйцемаси на початкову несучку на 0,7–1,5 кг зі зниженням рівня європейського коефіцієнта ефективності виробництва яєць на 1,0–2,2 од. Утримання курей-несучок угрупованнями по 9 голів провокує хронічний стрес через формування системи стабільної ієрархії та можливу деспотичну поведінку, внаслідок чого збереженість знижується на 4,4–6,5%, маса тіла — на 2,1–5,4%, несучість на початкову і на середню несучку — на 2,8–11,0% і на 3,8–8,0% відповідно, а також витрати корму знижуються на 2,0–3,6%, що призводить до зменшення валового виходу яєць на 8,9–48,2 млн. шт. та яйцемаси — на 552,0–3060,5 т з кожного пташника, зокрема на 3,0–16,5 тис. шт. і 189,4–1050,0 кг з 1 м² його площі, зменшення виходу яйцемаси на початкову несучку на 0,4–1,9 кг зі зниженням рівня європейського коефіцієнта ефективності виробництва яєць на 0,6–2,8 од.

Ключові слова: кури, величина угруповання, несучість, збереженість, стрес, європейський коефіцієнт ефективності виробництва яєць

У період адаптації до технологічних процесів організм птиці постійно зазнає впливу негативних чинників середовища утримання — стресорів, які через нервову та ендокринну системи провокують морфологічні і функціональні зміни в органах і тканинах,

що супроводжується зниженням продуктивності, природної резистентності організму та зміною поведінки курей у групі [17, 27]. Саме зі зміною поведінки курей залежно від розмірів угруповання пов'язують виникнення у них стресу [14]. Стресові ситуації ви-

магають від організму птиці додаткових витрат енергії на адаптацію до нових умов існування, змін інстинктивної поведінки, що призводить до зниження несучості через порушення овуляторного циклу [21, 22]. З широким спектром поведінкових, фізіологічних та імунологічних взаємозалежних змін в організмі курей пов'язують зниження їхньої несучості за дії стрес-факторів й інші дослідники [12, 20, 28]. Певні поведінкові дії курей за стресових ситуацій супроводжуються зменшенням обсягів споживання корму на 34,7% [1, 22], порушенням ендокринної системи [7], кислотно-лужної рівноваги [8], зниженням антиоксидантного статусу, гальмуванням функцій окремих органів та фізіологічних механізмів [27]. Зокрема, за підвищення рівня кортикостерону, норадреналіну і адреналіну настають порушення регуляції фізіологічних процесів, які стосуються стероїдогенезу, а отже — росту, розвитку фолікулів та овуляції яйцеклітин [24, 30]. Також ослаблюються синтез і вивільнення вітелогеніну, необхідного для формування жовтка яйця [3, 9]. Адреналін *in vitro* спричиняє атрезію фолікулів [23], його висока концентрація в організмі пригальмовує овуляцію і відтак відкладення яєць; висока концентрація кортикостерону призводить до деструкції яєчників [11].

Величина угруповання птиці суттєво впливає на різні когнітивні механізми. Розмір групи чинить тиск на основні структури мозку, що корелює з підвищеними вимогами до птиці, яка живе у відносно великих, складних та динамічних соціальних організаціях [10]. Ці вимоги стосуються здебільшого конкуренції за їжу або доступ до інших цінних ресурсів. Варіації розміру угруповання в природних популяціях саморегулюються, однак в умовах промислового утримання курей така можливість відсутня. Птиця не має змоги покинути групову обстановку, внаслідок чого утворюються посилені агресивні взаємодії, які можуть сприяти деспотичній поведінці [25]. Однак останні дослідження свідчать, що соціальна поведінка птиці не обмежується лише формуванням ієрархії, вона набагато пластичніша та динамічніша, ніж вважалося раніше. Ця поведінкова пластичність дозволяє птиці змінювати стратегії і легше пристосовуватися до різних технологічних (соціальних та фізичних) умов у межах обмеженого угруповання [13].

Збільшення величини угруповання курей (понад 10 голів) за їх утримання у клітках багаторушних батарей дослідники асоціюють зі зниженням збереженості поголів'я та погіршенням продуктивності [4, 6, 16]. Також є повідомлення про те, що утримання курей середніми за величиною угрупованнями (близько 30 голів) може провокувати у них соціальний стрес, який супроводжується зниженням продуктивності, оскільки розмір такої групи надто великий, щоб виробити стабільну ієрархію, але замалий для толерантної соціальної системи [14, 19].

Параметри розміру угруповань курей-несучок промислового стада у клітках не передбачені чинними вітчизняними нормами, а за рекомендаціями розробника

кросу вони мають налічувати не менше 7 голів [15], хоча на практиці досягають 100 голів, тому потребують уточнення під час використання 12-ярусних кліткових батарей класичних конструкцій. Однак вплив розмірів угруповання курей на їхню продуктивність за кліткового утримання з однаковою забезпеченістю площею вивчали переважно на невеликих групах птиці (до 10 голів) [2, 5, 26] або ж у дослідах використовували клітки різних конструкцій та виробників, що унеможливило їх адекватне порівняння [29]. Таким чином, існує необхідність вивчення впливу величини угруповання курей на їхню продуктивність за однакової щільності посадки несучок у клітках-аналогах за конструкцією.

Мета досліджень полягала у вивченні впливу величини угруповання курей на їхню продуктивність за однакової щільності посадки несучок у клітках-аналогах за конструкцією.

Матеріали і методи

Як об'єкт досліджень використовували яєчних курей промислового стада *Hy-Line W-36*. Досліди з експериментальними тваринами проводили відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Офіційний вісник Європейського Союзу L276/33, 2010).

В умовах сучасного комплексу з виробництва харчових яєць сформували 4 групи курей, кожна з яких утримували в окремому пташнику-аналогі за площею (2915 м²), обладнаному 12-ярусними клітковими батареями *Big Dutchman* (Німеччина), розмір кліток в яких різнився. Залежно від розміру кліток, за однакової щільності посадки (23,0 гол./м²) поголів'я курей у них було різним. Угруповання курей у кожній клітці 1-ї групи (клітка 362×112,0 см) налічувало 93, 2-ї групи (клітка 360×62,55 см) — 52, 3-ї групи (клітка 120×62,55 см) — 17 та 4-ї групи (клітка 70×56 см) — 9 голів (табл. 1).

Упродовж досліду курей забезпечували питною водою, повнораціонними комбікормами однакового складу та утримували згідно з вимогами (ВНТП-АПК-04.05). Упродовж 44 тижнів продуктивного періоду щодня визначали кількість яєць, знесених несучками кожної групи, та інтенсивність несучості. Щоденно здійснювали облік кількості курей, що вибули (через загибель і вибракування) та визначали збереженість поголів'я. Раз на тиждень оцінювали масу яєць і живу масу несучок з певних маркованих кліток за вибіркою, яка становила не менше ніж 100 (n≥100).

Європейський коефіцієнт ефективності виробництва яєць визначали за формулою [18]:

$$E_{\text{ке}} = (1,4 \times M) - (0,35 \times K),$$

де $E_{\text{ке}}$ — європейський коефіцієнт ефективності, у.о.;

1,4 і 0,35 — константні значення;

M — яєчна маса (яйцемаса), кг/гол.;

K — витрати корму на виробництво 1 кг яйцемаси, кг.

Таблиця 1. Схема досліджу
Table 1. The scheme of the experiment

Характеристика Characteristic	Група курей / Group of hens			
	1	2	3	4
Кількість ярусів у пташнику Number of tiers in the poultry house	12			
Кількість кліток Number of cages	4704	6048	18144	30912
Кількість голів у клітці / величина угруповання Number of hens in the cage / group size	93	52	17	9
Кількість голів у групі Number of hens in the group	437472	314496	308448	278208
Щільність посадки, гол./м ² Seating density, hens/m ²	23,0			
Забезпеченість площею, см ² /гол Area provision, cm ² /hen	436,0	433,0	441,5	435,6
Розміри клітки, см / Cage dimensions, cm				
— довжина / length	362	360	120	70
— глибина / depth	112,0	62,55	62,55	56
Площа клітки, см ² Cage area, cm ²	40544	22518	7506	3920
Кількість ніпелів у клітці, шт. Number of nipples in the cage, pcs.	12	17	12	1,5
Фронт годівлі, см Front of feeding, cm	7,8	6,9	7,1	7,8
Площа пташника, см ² Poultry house area, cm ²	2915			

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

Збереженість поголів'я у всіх групах була нижчою від рівня, рекомендованого розробником кросу *Hy-Line W-36* — 96,4% (табл. 2). Однак найбільшу різницю з рекомендованим рівнем збереженості (11,2%) спостерігали в курей 4-ї групи, яких утримували групами по 9 голів, тоді як кури 1-ї групи не досягали нормативу на 4,7%, 2-ї — на 5,1%, а 3-ї — на 6,8%. Збереженість поголів'я в курей 4-ї групи була нижчою на 6,5% ($P < 0,001$) порівняно з 1-ю, на 6,1% ($P < 0,001$) і 4,4% ($P < 0,001$) порівняно з 2- та 3-ю групами відповідно. В курей 2-ї групи збереженість була нижчою на 0,4% ($P < 0,001$) порівняно з 1-ю групою, а в курей

3-ї групи — на 2,1% ($P < 0,001$) та 1,7% ($P < 0,001$) порівняно з 1- та 2-ю групами відповідно.

Нормативних показників за масою тіла (1,54–1,58 кг) досягли лише несучки 1-ї та 2-ї груп. Найнижча маса тіла і, відповідно, найбільше відхилення від нормативних показників виявлено у курей 4-ї групи, які поступалися 1-й групі на 5,4% ($P < 0,001$), 2-й — на 4,6% ($P < 0,001$) та 3-й — на 2,1% ($P < 0,001$). Водночас несучки 2-ї групи мали на 0,9% нижчу масу тіла ($P < 0,001$) порівняно з 1-ю групою, а 3-ї групи — на 3,4% ($P < 0,001$) і 2,6% ($P < 0,001$) порівняно з 1-ю та 2-ю групами відповідно.

Згідно з нормативними вимогами, несучість на початкову несучку у віці 62 тижні має становити 262,2–268,7 шт., а на середню — 267,0–273,6 шт. Фактично ж, несучість жодної з груп на початкову несучку не досягла необхідного рівня, спостерігали зниження несучості зі зменшенням розміру групи курей. Зокрема, несучість на початкову несучку була вищою на 4,7% в курей 1-ї групи ($P < 0,001$) порівняно з 2-ю групою, на 9,2% ($P < 0,001$) і 12,4% — порівняно з 3-ю і 4-ю групами відповідно. Несучість курей 2-ї групи була вищою на 4,1% ($P < 0,001$) і 7,1% ($P < 0,001$) порівняно з 3-ю і 4-ю групами відповідно, а 3-ї групи — на 2,9% ($P < 0,001$).

За несучістю на середню несучку нормативного рівня досягли кури 1-ї та 2-ї груп. Найвищу несучість на середню несучку мали кури 1-ї групи, незначно вищу на 0,1% ($P < 0,05$), 4,5% ($P < 0,001$) і 8,6% ($P < 0,001$) порівняно з 2-ю, 3-ю і 4-ю групами відповідно. Кури 2-ї групи мали на 4,6% ($P < 0,001$) і 8,7% ($P < 0,001$) вищу несучість порівняно з 3- і 4-ю групами відповідно, а кури 3-ї групи — на 4,0% ($P < 0,001$) порівняно з 4-ю групою.

Динаміка інтенсивності несучості курей за групами представлена на рис. 3 наведеної кривої видно, що несучки 1-ї групи раніше за інших, а точніше — у 25-тижневому віці вийшли на пік несучості, який наблизився майже до позначки 100%. Несучки 2-ї і 3-ї групи досягли піку на 26-й тиждень життя і рівень несучості також наблизився до 100%. Несучки 4-ї групи вийшли на пік інтенсивності несучості лише на 28-й тиждень життя і її рівень не перевищував 95%, що, ймовірно, пов'язано зі зменшенням розміру групи їх утримання.

Маса яєць несучок кросу *Hy-Line W-36* у 62-тижневому повинна становити 63,4 г/шт., а споживання корму — 96–102 г/добу на 1 голову. Як видно з дослідних даних (табл. 2), кури 4-ї групи характеризувались на 1,9% ($P < 0,001$) нижчою масою яєць порівняно з 1-ю групою, на 1,2% ($P < 0,001$) і 0,3% ($P < 0,05$) — порівняно з 2- та 3-ю групами відповідно. Маса яєць курей 2-ї групи була нижчою на 0,6% ($P < 0,001$) порівняно з 1-ю групою, а курей 3-ї групи — на 1,5% ($P < 0,001$) та 0,9% порівняно з 1- і 2-ю групами відповідно. Однак різниця за масою яєць між групами не була значною і не відображала зменшення розміру групи курей.

Щодо витрат корму, то несучки всіх груп перевищили нормативний рівень, однак простежувався чіткий

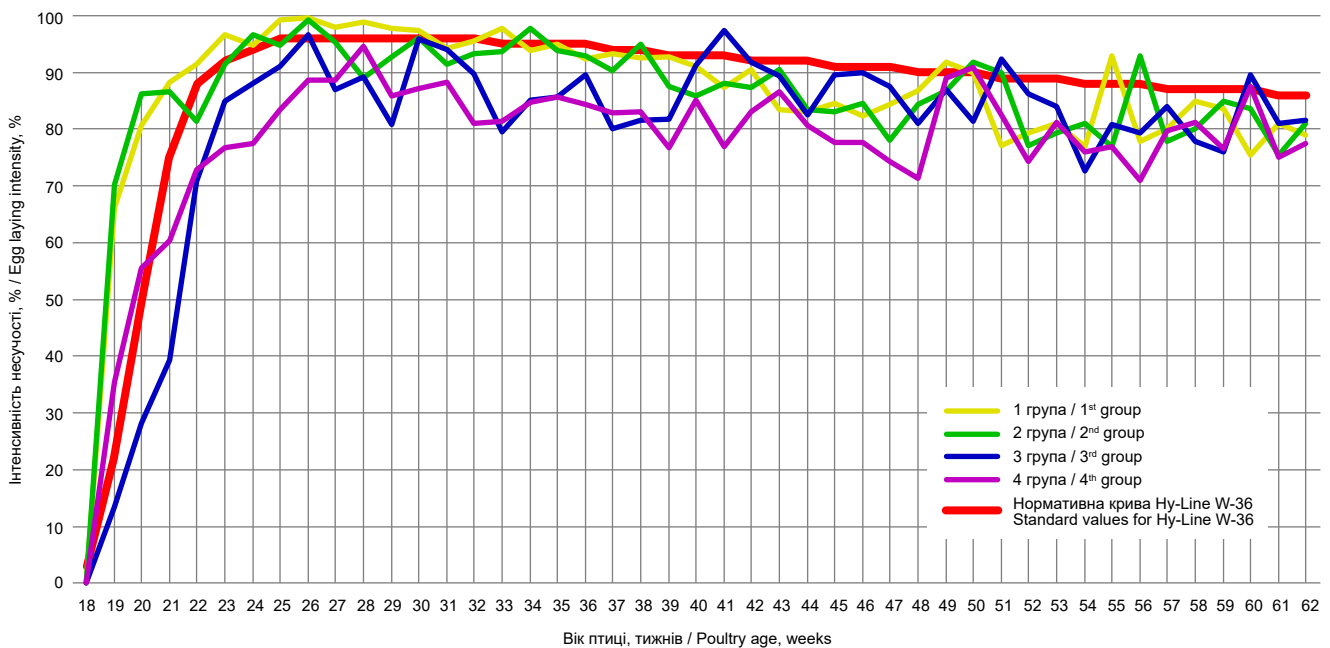


Рис. Крива інтенсивності несучості курей
Fig. Curve of hens' laying intensity

Таблиця 2. Продуктивність курей залежно від величини угруповання
Table 2. Hens' productivity depending on the group size

Показники / Characteristic	Група несучок / Group of hens			
	1 (n=93)	2 (n=52)	3 (n=17)	4 (n=9)
Збереженість поголів'я / Total preservation, %	91,7±0,04	91,3±0,05**	89,6±0,05***°	85,2±0,07***°
Маса тіла, г / Body weight, g	1578±0,12	1564±0,24**	1524±0,25***°	1492±0,09***°
Несучість на початкову несучку, шт. / Egg laying per initial laying hen, eggs	253,6±0,42	241,8±0,21**	232,3±0,09***°	225,7±0,06***°
Несучість на середню несучку, шт. / Egg laying per average laying hen, eggs	271,8±0,09	272,0±0,04*	260,1±0,14***°	250,2±0,04***°
Маса яєць, г / Egg mass, g	64,6±0,02	64,2±0,11**	63,6±0,03***°	63,4±0,02***°
Витрати корму, г/гол./добу / Feed consumption, g /hen/day	111,4±0,16	111,3±0,13	109,6±0,19***°	107,4±0,01***°

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

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

вплив розміру угруповання курей. Найбільше споживання корму спостерігали у несучок 1-ї та 2-ї груп. Зокрема, кури 1-ї групи споживали на 1,6% ($P < 0,001$) і 3,7% ($P < 0,001$), а кури 2-ї групи — на 1,6% ($P < 0,001$) і 3,6% ($P < 0,001$) більше корму порівняно з 3- і 4-ю групами відповідно. Водночас кури 3-ї групи характеризувались більшим споживанням корму — на 2,0% ($P < 0,05$) порівняно з 4-ю групою.

Для визначення ефективності виробництва харчових яєць залежно від величини угруповання курей до чотирьох пташників-аналогів за площею і конструкцією посадили різне поголів'я несучок (табл. 3). Зокрема, в 1-й групі їх було на 159264, у 2-й — на 36288, а в 3-й — на 30240 більше, ніж у 4-й групі (табл. 3). Однак до 62-тижневого віку в 4-й групі

вибула найбільша кількість несучок через нижчу збереженість поголів'я — 85,2% порівняно з 89,6–91,7% в інших групах. Всього в 4-й групі загинуло або було вибракувано 41175 несучок, тобто в 1,1 раза більше, ніж у 1-й (на 4865 голів) та в 1,5 і 1,3 раза більше, ніж у 2-й (на 13814 голів) та 3-й (на 9096 голів) групах, що пов'язано зі зменшенням розміру групи курей.

У 2-й групі, в якій курей утримували групами по 52, було посаджено на 122976 менше курей, що спричинило зниження валового виробництва яєць на 34,9 млн. шт., яєчної маси — на 2216,6 т. З 1 м² пташника отримали на 12,0 тис. шт. менше яєць і на 760,5 кг менше яйцемаси за її на 0,8 кг меншого виходу на початкову несучку, що зумовило зниження значення європейського коефіцієнта ефективності на 1,2 од. ($P < 0,001$).

Таблиця 3. Ефективність виробництва харчових яєць залежно від величини угруповання курей
Table 3. The efficiency of egg production depending on the group size of hens

Показники / Characteristic	Група несучок / Group of hens			
	1 (n=93)	2 (n=52)	3 (n=17)	4 (n=9)
Початкове поголів'я, гол / Initial total number, hens	437472	314496	308448	278208
Поголів'я несучок у віці 62 тиж., гол / Total number at 62 weeks of age, hens	401162	287135	276369	237033
Смертність, вибракування, гол. / Mortality, culling, hens	36310	27361	32079	41175
Отримано яєць у 62-тиж. віці, шт. / Eggs obtained at 62 weeks of age, pcs	110942899	76045133	71652470	62791546
Отримано яйцемаси, всього, кг / Obtained egg mass, total, kg	7022686	4806052	4514106	3962147
— на початкову несучку, кг / per initial laying hen, kg	16,1	15,3	14,6	14,2
Отримано з 1 м ² пташнику / Obtained from 1 m ² of poultry house:				
— яєць, шт. / eggs, pcs	38059	26088	24581	21541
— яйцемаси, кг / egg mass, kg	2409,2	1648,7	1548,6	1359,2
Затрати корму, всього, кг / Feed consumption, total, kg	15818638	11352551	11010730	9785577
— на 1 кг яйцемаси / per 1 kg of egg mass	2,25	2,36	2,44	2,47
Європейський коефіцієнт ефективності, од. / European efficiency ratio, units	21,8±0,06	20,6±0,07*	19,6±0,07*°	19,0±0,07**

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

Note. * — P<0.001 compared with the 1st group; ° — P<0,001 compared with the 2nd group; ' — P<0,001 compared with the 3rd group.

Водночас у 3-й групі, у якій птицю утримували групами по 17 курей, було посаджено на 129024 менше несучок, що спричинило зменшення валового виробництва яєць на 39,3 млн. шт., яєчної маси — на 2508,6 т. і виходу яйцемаси на початкову несучку — на 1,5 кг. З 1 м² пташника отримано на 13,5 тис. шт. менше яєць і на 860,6 кг менше яєчної маси, ніж у 1-й групі, за вищих витрат корму на виробництво 1 кг яйцемаси. Тому й коефіцієнт ефективності виробництва харчових яєць в 3-й групі виявився нижчим, ніж у 1-й групі, на 2,2 од. (P<0,001). Крім того, порівняно з 2-ю групою (угруповання по 52 особи), у 3-й групі було отримано на 4,4 млн. менше яєць, на 291,9 т. менше яйцемаси, з 1 м² пташника — на 1,5 тис. шт. менше яєць і на 100,1 кг яйцемаси за нижчого європейського коефіцієнта ефективності виробництва харчових яєць на 1,0 од (P<0,001).

У 4-й групі за зменшення розміру угруповань до 9 голів спостерігали на 48,2 млн. шт. нижче валове виробництво яєць і на 3060,5 т менше яєчної маси порівняно з 1-ю групою, на 13,3 млн. шт. і 843,9 т — порівняно з 2-ю групою, на 8,9 млн. шт. і 552,0 т — порівняно з 3-ю групою. Знижувався також і вихід яйцемаси на початкову несучку — на 1,9 кг порівняно з 1-ю групою, на 1,1 і 0,4 кг порівняно з 2-ю і 3-ю групами відповідно. З 1 м² пташника було отримано на 16,5 тис. шт. менше яєць і на 1050,0 кг менше яйцемаси порівняно з 1-ю групою, на 4,5 тис. шт. і 289,5 кг — порівняно з 2-ю, на 3,0 тис. шт. і 189,4 кг — порівняно з 3-ю групою. Це призвело до зниження європейського коефіцієнта ефективності виробництва яєць на 2,8 од. (P<0,001) порівняно з 1-ю групою, на 1,6 од. (P<0,001) і 0,6 од. (P<0,001) — порівняно з 2- та 3-ю групами відповідно.

Висновки

Максимальну продуктивність курей-несучок сучасних білояєчних кросів під час утримання у клітках 12-ярусних кліткових батареї спостерігали за розміру угруповань 52–93 голови. Реалізація продуктивності у 62-тижневому віці на рівні 225,7–232,3 яйця на початкову несучку дає можливість за 44-тижневий період яйцекладки отримувати додатково 13,3–48,2 млн. яєць з кожного пташника (4,5–16,5 тис. шт. з 1 м² його площі) порівняно з розміром групи 9 голів за вищого рівня європейського коефіцієнта ефективності виробництва на 1,6–2,8 од.

Розмір угруповання 17 голів недостатній для формування стратегії соціальної толерантності в курей і супроводжується стресовими станами, які проявляються зниженням збереженості поголів'я на 1,7–2,1% (6,8% > норми), маси тіла — на 2,6–3,4% (1,0% < норми), несучості на початкову — на 3,9–8,4% (11,4% < норми) і на середню несучку — на 4,3–4,4% (2,6% < норми), а також зниженням витрат корму на 1,5–1,6% (7,5% > норми), що зумовлює зменшення валового виходу яєць на 4,4–39,3 млн. шт. та яйцемаси — на 291,9–2508,6 т з кожного пташника, у тому числі на 1,5–13,5 тис. шт. і 100,1–860,6 кг з 1 м² його площі, зменшення виходу яйцемаси на початкову несучку на 0,7–1,5 кг (8,2% < норми) зі зниженням рівня європейського коефіцієнта ефективності виробництва яєць на 1,0–2,2 од.

Утримання курей-несучок по 9 голів спричиняє розвиток у них хронічного стресу через формування системи стабільної ієрархії і можливу деспотичну

поведінку, наслідками чого є зниження збереженості на 4,4–6,5% (11,2% > норми), маси тіла — на 2,1–5,4% (3,1% < норми), несучості на початкову несучку — на 2,8–11,0% (13,9% < норми), на середню несучку — на 3,8–8,0% (6,3% < норми), а також зниженням витрат корму на 2,0–3,6% (5,3% > норми), що зумовлює зменшення валового виходу яєць на 8,9–48,2 млн. шт. і яйцемаси — на 552,0–3060,5 т з кожного пташника, зокрема на 3,0–16,5 тис. шт. і 189,4–1050,0 кг з 1 м² його площі, зменшення виходу яйцемаси на початкову несучку на 0,4–1,9 кг (10,7% < норми) зі зниженням рівня європейського коефіцієнта ефективності виробництва яєць на 0,6–2,8 од.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження будуть скеровані на вивчення стрес-індукованих порушень в організмі курей, спричинених розміром угруповання з використанням гематологічних та біохімічних маркерів.

- Abidin Z, Khatoun A. Heat stress in poultry and the beneficial effects of ascorbic acid (vitamin C) supplementation during periods of heat stress. *World. Poult. Sci. J.* 2013; 69 (1): 135–151. DOI: 10.1017/S0043933913000123.
- Abrahamsson P, Tauson R. Effects of group size on performance, health and birds' use of facilities in furnished cages for laying hens. *Acta Agriculturae Scand. A.* 1997; 47 (4): 254–260. DOI: 10.1080/09064709709362394.
- Ajakaiye JJ, Ayo JO, Ojo SA. Effects of heat stress on some blood parameters and egg production of *Shika Brown* layer chickens transported by road. *Biol. Res.* 2010; 43 (2): 183–189. DOI: 10.4067/S0716-97602010000200006.
- Appleby MC. Modification of laying hen cages to improve behavior. *Poult. Sci.* 1998; 77 (12): 1828–1832. DOI: 10.1093/ps/77.12.1828.
- Appleby MC. The Edinburgh modified cage: effects of group size and space allowance on brown laying hens. *J. Appl. Poult. Res.* 1998; 7 (2): 152–161. DOI: 10.1093/japr/7.2.152.
- Appleby MC, Walker AW, Nicol CJ, Lindberg AC, Freire R, Hughes BO, Elson HA. Development of furnished cages for laying hens. *Brit. Poult. Sci.* 2002; 43 (4): 489–500. DOI: 10.1080/0007166022000004390.
- Attia YA, Hassan RA, Qota MA. Recovery from adverse effects of heat stress on slow-growing chicks in the tropics. 1: Effect of ascorbic acid and different levels of betaine. *Trop. Anim. Health Prod.* 2009; 41: 807–818. DOI: 10.1007/s11250-008-9256-9.
- Borges SA, Da Silva AVF, Majorca A, Hooge DM, Cummings KR. Physiological responses of broiler chicken to heat stress and electrolyte balance (sodium plus potassium minus chloride, milliequivalent per kilogram). *Poult. Sci.* 2004; 83 (9): 1551–1558. DOI: 10.1093/ps/83.9.1551
- Ciftci M, Ertas ON, Guler T. Effects of vitamin E and vitamin C dietary supplementation on egg production and egg quality of laying hens exposed to a chronic heat stress. *Revue de Med. Vét.* 2005; 156: 107–111.
- Croney CC, Newberry RC. Group size and cognitive processes. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2007; 103 (3–4): 215–228. DOI: 10.1016/j.applanim.2006.05.023.
- Edens FW, Siegel HS. Modification of corticosterone and glucose responses by sympatholytic agents in young chickens during acute heat exposure. *Poult. Sci.* 1976; 55 (5): 1704–1712. DOI: 10.3382/ps.0551704.
- El-Lethey H, Aerni V, Jungi TW, Wechsler B. Stress and feather pecking in laying hens in relation to housing conditions. *Brit. Poult. Sci.* 2000; 41 (1): 22–28. DOI: 10.1080/00071660086358.
- Estevez I, Andersen IL, Nævdal E. Group size, density and social dynamics in farm animals. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2007; 103 (3–4): 185–204. DOI: 10.1016/j.applanim.2006.05.025.
- Guo YY, Song ZG, Jiao HC, Song QQ, Lin H. The effect of group size and stocking density on the welfare and performance of hens housed in furnished cages during summer. *Anim. Welfare.* 2012; 21 (1): 41–49. DOI: 10.7120/096272812799129501.
- Guide to the content of the final hybrid Hy-Line W-36. 2019. 32 p. Available at: <https://www.hyline.com/filesimages/hy-line-products/hy-line-product-pdfs/w-36/36%20com%20eng.pdf>
- Hetland H, Moe RO, Tauson R, Lervik S, Svihus B. Effect of including whole oats into pellets on performance and plumage condition in laying hens housed in conventional and furnished cages. *Acta Agriculturae Scand. A.* 2004; 54: 206–212. DOI: 10.1080/09064700410010026.
- Kang HK, Park SB, Jeon JJ, Kim HS, Kim SH, Hong E, Kim CH. Effect of stocking density on laying performance, egg quality and blood parameters of *Hy-Line Brown* laying hens in an aviary system. *Eur. Poult. Sci.* 2018; 82. DOI: 10.1399/eps.2018.245.
- Kavtarashvili AS, Holubov SS. Determining the efficiency of poultry production by express methods. *Modern Poult. Econ.* 2013; 2 (123): 6–9. Available at: http://aviculture.agroua.net/rubrics.php?id_menu=21&id_articles=411 (in Russian)
- Keeling LJ, Estevez I, Newberry RC, Correia MG. Production-related traits of layers reared in different sized flocks: The concept of problematic intermediate group sizes. *Poult. Sci.* 2003; 82 (9): 1393–1396. DOI: 10.1093/ps/82.9.1393.
- Khan R, Naz S, Nikousefat Z, Tufarelli V, Javdani M, Rana N, Laudadio V. Effect of vitamin E in heat-stressed poultry. *World. Poult. Sci. J.* 2011; 67 (3): 469–478. DOI: 10.1017/S0043933911000511.
- Kim YH, Kim J, Yoon HS, Choi YH. Effects of dietary corticosterone on yolk colors and eggshell quality in laying hens. *As. Australas. J. Anim. Sci.* 2015; 28 (6): 840–846. DOI: 10.5713/ajas.14.0849.
- Mashaly MM, Hendricks GL, Kalama MA, Gehad AE, Abbas AO, Patterson PH. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poult. Sci.* 2004; 83 (6): 889–894. DOI: 10.1093/ps/83.6.889.
- Moudgal RP, Razdan MN. *In vitro* studies on ovulatory mechanisms in the hen. *J. Vet. Med.* 1985; 32 (1–10): 179–186. DOI: 10.1111/j.1439-0442.1985.tb01932.x.
- Oguntunji AO, Alabi OM. Influence of high environmental temperature on egg production and shell quality: a review. *World. Poult. Sci. J.* 2010; 66 (4): 739–749. DOI: 10.1017/S004393391000070X.
- Rodenburg TB, Koene P. The impact of group size on damaging behaviours, aggression, fear and stress in farm animals. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 2007; 103 (3–4): 205–214. DOI: 10.1016/j.applanim.2006.05.024.
- Shimmura T, Azuma T, Eguchi Y, Uetake K, Tanaka T. Effects of separation of resources on behaviour, physical condition and production of laying hens in furnished cages. *Brit. Poult. Sci.* 2009; 50 (1): 39–46. DOI: 10.1080/00071660802613260.
- 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.
- Surai PF, Fotina TI. Physiological mechanisms of heat stress development in poultry industry. *Anim. Breed. Today.* 2013; 6: 54–60. (in Russian)
- Weitzenbürger D, Vits A, Hamann H, Distl O. Production, egg quality, bone strength, claw length, and keel bone deformities of laying hens housed in furnished cages with different group sizes. *Poult. Sci.* 2005; 84 (10): 1511–1519. DOI: 10.1093/ps/84.10.1511.
- Yakubu A, Salako AE, Ige OA. Effect of genotype and housing systems on the laying performance of chickens in different season in the semi-humid tropics. *Intern. J. Poult. Sci.* 2007; 6 (6): 434–439. DOI: 10.3923/ijps.2007.434.439.

Realization of hens' potential productivity under the influence of group size

M. Sakhatsky, Yu. Osadcha
seledat@ukr.net

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

The parameters of the group size of laying hens of the industrial herd in cages are not provided by current domestic standards, and according to the recommendations of the cross developer should be at least 7 birds, although in practice they reach 100 birds, so they need to be clarified when using 12-tier cage batteries. The aim of the research was to study the influence of the group size of hens on their productivity with the same density of laying hens in similar cages by design. To do this, in a modern complex for the production of eggs we formed 4 groups of hens, each of which was kept in a separate poultry house-analogue in area and equipment, equipped with 12-tier cage batteries, the size of the cages in which differed. The hens' group in each cage of the 1st group contained 93 birds, the 2nd group — 52 birds, the 3rd — 17 birds and 4th — 9 birds. It was found that the maximum realization of laying hens productivity of modern white-egg crosses during their keeping in cages of 12-tier cage batteries was observed for the 52–93 hens' groups which allows for a 44-week period of use to receive an additional 13.3–48.2 million eggs from each poultry house (4.5–16.5 thousand eggs per 1 m² of its area) compared to the group size 9 hens, at the highest level of the European coefficient of efficiency of their production by 1.6–2.8 units. It is shown that the group size 17 hens is insufficient for the formation of a strategy of social tolerance in hens and is accompanied by stressful conditions, which are manifested in a decrease in the preservation by 1.7–2.1%, body weight — by 2.6–3.4 %, laying on the initial laying hen — by 3.9–8.4% and on the average laying hen — by 4.3–4.4%, as well as a reduction in feed costs by 1.5–1.6%, which leads to a decrease in gross output eggs by 4.4–39.3 million eggs and egg mass — by 291.9–2508.6 tons from each poultry house, including 1.5–13.5 thousand eggs and 100.1–860.6 kg per 1 m² of its area, reducing the yield of egg mass per initial laying hen by 0.7–1.5 kg with a decrease in the level of the European coefficient of efficiency of egg production by 1.0–2.2 units. While the keeping of laying hens in groups of 9 hens causes the development of chronic stress through the formation of a system of stable hierarchy and possible despotic behavior, the consequences of which are a decrease in preservation by 4.4–6.5%, body weight — by 2.1–5.4%, egg production at the primary — by 2, 8–11.0% and for the average laying — by 3.8–8.0%, as well as a decrease in feed costs by 2.0–3.6%, which causes a decrease in the gross yield of eggs by 8.9–48, 2 million eggs and egg mass — by 552.0–3060.5 tons from each poultry house, including 3.0–16.5 thousand eggs and 189.4–1050.0 kg from 1 m² of its area, reduction of egg yield per initial laying hen by 0.4–1.9 kg with a decrease in the level of the European coefficient of egg production efficiency by 0.6–2.8 units.

Key words: hens, group size, egg production, preservation, stress, European egg production efficiency ratio



Вплив використання засобів охолодження повітря у легкозбірних приміщеннях на показники поведінки та комфорту корів за високих температур навколишнього середовища

О. О. Борщ^{1,2}, С. Ю. Рубан², О. В. Борщ¹, М. М. Федорченко¹

borshcha@outlook.com

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

²Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

Метою цієї роботи було вивчити вплив використання засобів охолодження повітря у легкозбірних приміщеннях на поведінку та комфорт корів у періоди небезпечно значення температурно-вологісного індексу (ТВІ). Дослідження проводили упродовж липня 2020 р. у центральній частині України (Київська обл., Білоцерківський р-н) в період тривалого високо-температурного навантаження. Значення добової температури повітря навколишнього середовища коливалось у діапазоні +19...+34°C, а відносної вологості повітря — 46–78%. Для проведення досліджень було вибрано два господарства з безприв'язним утриманням корів та різними варіантами рівня комфорту тварин. Перший варіант — безприв'язно-боксове утримання у легкозбірному приміщенні зі встановленими вентиляторами над кормовим столом для охолодження повітря. Години роботи вентиляторів — з 12:00 по 17:00. Другий варіант — безприв'язне утримання у легкозбірному приміщенні на глибокій солом'яній довгонезмінюваній підстилці. Встановлено, що використання систем вентиляції дозволило на 5,3°C знизити середньодобові значення температури повітря порівняно з легкозбірним приміщенням на глибокій підстилці без систем вентиляції. За використання систем вентиляції у приміщенні значення індексів температурного навантаження (ІТН) та індексів еквівалентної температури для худоби (ІЕТХ), котрі вказують на рівень чутливості організму до тривалих дій високих температур, були нижчими на 1,63°C і 1,11°C відповідно порівняно з індексами, отриманими за утримання тварин у приміщеннях на глибокій підстилці без систем вентиляції. Тривалість відпочинку лежачи за варіанту утримання корів з використанням елементів охолодження повітря була вищою на 68 хв/добу порівняно з утриманням на глибокій підстилці без елементів охолодження повітря. У корівнику з системами вентиляції витрати енергії на тепловіддачу організму тварини становили 63,1 МДж, що на 5,4 МДж нижче порівняно з утриманням у корівнику на глибокій підстилці без використання систем вентиляції.

Ключові слова: корови молочного напрямку продуктивності, високі температури, легкозбірні приміщення, системи вентиляції, поведінка, комфорт

В останні десятиліття триває тенденція до глобального потепління [24]. Головними наслідками кліматичних змін, які мають негативний вплив на фізіологію тварин, добробут, здоров'я та їхнє розмноження, є підвищення температури повітря та різких коливань відносної вологості повітря, кількості атмосферних опадів, напрямку і сили вітру. Серед погодних факторів, що впливають на функціонування молочної худоби, найбільший вплив має температура

навколишнього середовища. Встановлено, що термонейтральною — тобто такою, за котрої тварини не відчують спеки або холоду — для організму молочної худоби є температура в діапазоні –5...+25°C [1, 3, 4].

Вплив температури повітря на молочну худобу варто розглядати у поєднанні з показником відносної вологості повітря. Вплив теплового стресу на молочних корів визначають кількісно показником температурно-вологісного індексу (ТВІ) [9].

Критичною є температура навколишнього середовища $+25...+26^{\circ}\text{C}$ або критична межа ТВІ — $\text{ТВІ}=72$, відповідно, $+28^{\circ}\text{C}$ за відносної вологості 50%, за якої дійні корови можуть без збільшення енергетичних витрат підтримувати стабільну температуру тіла [12]. Збільшення кількості спекотних днів з температурою понад верхню критичну межу ТВІ посилює наслідки теплового стресу. Вплив наслідків глобального потепління на продуктивність тварин та їхній добробут і здоров'я призведе до коригування елементів технології утримання у багатьох регіонах світу [17].

Система утримання тварин — це комплекс зоотехнічних, технологічних, ветеринарних та організаційних заходів, які враховують природно-економічні умови і забезпечують потоковість виробничих процесів [8, 10, 15]. Системи утримання різняться за ступенем інтенсивності використання тварин, типом кормовиробництва, рівнем механізації виробничих процесів та показниками комфорту і добробуту утримання [6, 7, 20].

Понад 83% молочних корів у країнах ЄС утримують безприв'язно, у зимовий період — у приміщеннях, а у весняно-осінній — на вигульно-кормових майданчиках або пасовищах. Така комбінація утримання не тільки сприяє зменшенню затрат праці, а й задовольняє вимоги щодо добробуту тварин [5].

Заходи зі зменшення впливу глобального потепління у країнах Центральної і Східної Європи можна перейняти з досвіду ведення скотарства у спекотніших регіонах та країнах — Ізраїлі, Мексиці, Бразилії [14, 19]. Щоб пом'якшити негативний вплив на продуктивність, репродуктивну ефективність, здоров'я та комфорт корів, застосовують різні технологічні підходи [17]. Насамперед це системи механічної вентиляції та охолодження тварин (вентилятори та системи зрошення), матраци для відпочинку з прокачуванням через них охолодженої води, вигульні майданчики з навісами для відпочинку та годівлі, а також їхні комбінації. Застосування вентиляторних установок сприяло зниженню у тварин частоти дихання, ректальної температури та збільшенню споживання сухої речовини кормів.

Метою досліджень було встановити вплив варіанту утримання молочних корів у легкозбірних приміщеннях з використанням засобів охолодження повітря і без них у період небезпечного значення ТВІ на показники комфорту і добробуту тварин.

Матеріали і методи

Дослідження проводили упродовж липня 2020 р. у центральній частині України (Київська обл., Білоцерківський р-н) у період тривалого високотемпературного навантаження. Значення добової температури повітря навколишнього середовища коливались в діапазоні $+19...+34^{\circ}\text{C}$, а відносної вологості повітря — 46–78%. Для проведення досліджень вибрали два господарства з безприв'язним утриманням корів та різними варіантами рівня комфорту тварин.

Перший варіант — безприв'язно-боксове утримання у легкозбірному приміщенні (Д×Ш×В — $138\times 36\times 9,54$ м) зі встановленими над кормовим столом вентиляторами для охолодження повітря. Вентилятори за необхідності функціонують у періоди високих температур впродовж теплового періоду року (травень-вересень). Години роботи вентиляторів — з 12:00 по 17:00. У приміщенні є 421 дійна корова української чорно-рябої молочної та голштинської порід. Приміщення розділено на чотири секції, у кожній з яких утримують від 98 до 109 корів. Підстилку (солома) вносили з розрахунком 2 кг/голову/добу. Другий варіант — безприв'язне утримання у легкозбірному приміщенні на глибокій соломяній довгонезмінюваній підстилці (Д×Ш×В — $100\times 60\times 8$ м). У приміщенні утримують 434 дійні корови українських чорно- та червоно-рябих молочних порід. Приміщення розділено на чотири секції, у кожній з яких перебувають від 105 до 113 тварин. Підстилку солому вносили з розрахунку 5 кг/голову/добу.

Температуру повітря і відносну вологість у приміщеннях визначали комбінованим цифровим приладом *Velleman*, модель *DVM401* (Бельгія).

Температурно-вологісний індекс (ТВІ) розраховували згідно з методикою [13].

$$\text{ТВІ} = (1,8 \times T + 32) - (0,55 - 0,0055 \times \text{ВВ}) \times (1,8 \times T - 26,8) \quad (1),$$

де T — температура повітря, $^{\circ}\text{C}$;

ВВ — Відносна вологість повітря, %.

ТВІ поділяють на 3 категорії: 1) 66–71 — нормальний; 2) 72–79 — тривожний; 3) 80 і більше — небезпечний.

Добову поведінку корів вивчали на всьому поголів'ї ферми за методикою, згідно з якою упродовж двох суміжних діб через кожні 10 хв. у піддослідних групах фіксували кількість корів, які на час спостереження активно або пасивно споживали корм, відпочивали стоячи або лежачи біля годівниці чи на підстилці, рухались, пили воду тощо. Тривалість основних поведінкових реакцій прирівнювали до графіка «ідеального дня», згідно з яким >50% тривалості доби тварини мають відпочивати у положенні лежачи, 20–21% — споживати корми, до 10% — ходити і 2–4% пити воду [18].

Для визначення комфортності перебування тварин у приміщеннях використовували індекси температурного навантаження (ІТН) [23] та еквівалентної температури для худоби (ІЕТХ) [2]. Ці індекси характеризують вплив температури повітря у поєднанні з відотною вологістю, швидкістю руху повітря та інсоляцією на рівень чутливості організму тварин у певному середовищі існування (або варіанті утримання).

Температуру місць відпочинку, а також під лежачою короною визначали за допомогою термометра *A36PF-D43* (США). Витрати енергії на тепловіддачу організму розраховували за методами [17]. Для визначення витрат енергії на тепловіддачу організму враховували процеси конвекції, випаровування та випромі-

нювання. В обох господарствах було сформовано по групі корів української чорно-рябї молочної породи II-III лактацій (n=20) у період роздою (70–95 доба лактації).

Матеріали досліджень обробляли методом варіаційної статистики на основі розрахунку середнього арифметичного, середньоквадратичної похибки та вірогідності різниці між порівнюваними показниками [22]. Вірогідність отриманих результатів і різницю між показниками розраховували за *t*-критерієм Стьюдента. Для показу вірогідності в таблицях прийнято умовні позначення P>0,95; P>0,99; P>0,999, які у статті, відповідно, позначені зірочками (*; **; ***).

Результати й обговорення

Встановлено, що використання систем вентиляції суттєво вплинуло на показник температури повітря у приміщенні упродовж небезпечного періоду ТВІ (табл. 1). Так, за варіанту утримання корів у легкозбірному приміщенні з вентиляторами середня температура у приміщенні була на 5,3°C нижчою (P<0,001) порівняно з легкозбірним приміщенням на глибокій підстилці без використання систем охолодження повітря.

Значення відносної вологості повітря за варіанту утримання з використанням систем вентиляції повітря було вищим на 1,1% порівняно з приміщенням без використання систем охолодження повітря.

Результати наших досліджень співпадають з даними тайванських науковців, котрі вказують на зниження середньодобових температур у приміщеннях з використанням засобів вентиляції повітря [21].

Для більш повноцінного вивчення впливу значень ТНІ на комфорт корів за різних варіантів утримання використовували індекс температурного навантаження (ІТН) та індекс еквівалентної температури для худоби (ІЕТХ), котрі вказують на рівень чутливості організму за тривалої високої дії температур (табл. 2). Дещо кращі значення ІТН та ІЕТХ спостерігали за утримання корів у легкозбірному приміщенні з системами вентиляції повітря. Значення ІТН були нижчими на 1,63°C (P<0,01), а ІЕТХ — на 1,11 (P<0,001) порівняно з приміщеннями з утриманням на глибокій підстилці без елементів охолодження повітря.

Встановлено, що використання елементів охолодження повітря у приміщенні в період небезпечного значення ТВІ мають позитивний ефект на показники добової поведінки корів (табл. 3). При цьому основні показники поведінки, які вказують на комфорт утримання — тривалість відпочинку лежачи та поїдання корму — були вищими на 68 хв. (P<0,001) і 26 хв. (P<0,01) відповідно порівняно з утриманням на глибокій підстилці без елементів охолодження повітря. За варіантів утримання на глибокій підстилці тривалість відпочинку лежачи була меншою від мінімального рекомендованого значення (720 хв.) на 4 хв. [18]. За використання елементів охолодження повітря показники тривалості переміщень (руху) корів та стояння

Таблиця 1. Температура і вологість повітря у приміщенні упродовж періоду високих температур
Table 1. Indoor air temperature and humidity during periods of high temperatures

Варіант утримання Variants of loose housing	Температура [†] / Temperature [†] , °C	Відносна вологість повітря [†] / Relative humidity [†] , %
Боксове з елементами охолодження Loose housing with misting system	22,7±0,34	64,4±0,48
На глибокій підстилці без елементів охолодження Deep litter without misting system	28,0±0,25***	63,3±0,48

Примітка. [†] — температура навколишнього середовища 28,3°C; [†] — відносна вологість повітря навколишнього середовища 65,7%. Тут і далі * — P<0,05, ** — P<0,01, *** — P<0,001 порівняно з показниками у приміщенні з елементами охолодження.
Note. [†] — ambient temperature is 28.3°C; [†] — relative humidity of the environment is 65.7%. Here and further * — P<0.05, ** — P<0.01, *** — P<0.001 compared with indicators in loose housing with misting system.

Таблиця 2. Середні показники ІТН та ІЕТХ у період високих температур
Table 2. Average ETI and ETIC during periods of high temperatures

Варіант утримання Variants of loose housing	ІТН, °C	ІЕТХ
Боксове з елементами охолодження Loose housing with misting system	32,56±0,33	22,27±0,14
На глибокій підстилці без елементів охолодження Deep litter without misting system	34,19±0,47**	23,38±0,16***

були меншими на 8 хв. (P<0,001) і 25 хв. (P<0,001) відповідно порівняно з варіантом утримання на глибокій підстилці без елементів охолодження повітря. За цієї технології утримання меншою була і тривалість напування — на 5 хв. (P<0,001).

У періоди тривалих високотемпературних навантажень молочна худоба шукає місця для відпочинку, в котрих можна частково (або нетривало) знизити дію температури. Такими місцями дуже часто стають гноеві канали у приміщеннях, також калюжі та болотисті ділянки землі на вигульно-кормових майданчиках. Ми проаналізували показники температури місць відпочинку (боксів та зон відпочинку) за різних варіантів утримання упродовж періоду небезпечного значення ТВІ (табл. 4).

Використання систем вентиляції у корівнику дозволило на 2,1°C знизити температуру місць відпочинку порівняно з приміщенням з утриманням на глибокій підстилці відповідно без систем вентиляції повітря. Відповідно, нижчою була і температура під лежачою короною — на 2,0°C (P<0,05).

Таблиця 3. Тривалість основних актів поведінки у період високих температур, хв./добу
Table 3. Duration of main daily behavior reactions in the period of high temperatures, min./day

Варіант утримання Variants of loose housing	Акти поведінки / Behavior acts				
	Лежать Lying	Поїдають корм Fodder consuming	Рухаються Moving	Стоять Standing	П'ють воду Water drinking
Боксове з елементами охолодження Loose housing with misting system (n=421)	784±11,15	267±5,32	32±0,39	143±3,78	39±0,23
На глибокій підстилці без елементів охолодження Deep litter without misting system (n=434)	716±7,88***	241±6,89**	44±0,61***	168±5,04***	44±0,18***

Таблиця 4. Показники температури місць відпочинку (лігва) та витрати енергії на тепловіддачу організму корів у період високих температур (n=20)
Table 4. Indicators of temperature of resting places (lair) and energy consumption for heat transfer in cows during the period of high temperatures (n=20)

Варіант утримання Variants of loose housing	Температура місця відпочинку, °C Rest place temperature, °C	Температура місця відпочинку під лежачою корою, °C Rest place temperature under a lying cow, °C	Витрати енергії на тепловіддачу організму, МДж Energy consumption for heat transfer of the body, MJ
Боксове з елементами охолодження Loose housing with misting system	25,1±0,83	28,4±0,56	63,1±1,84
На глибокій підстилці без елементів охолодження Deep litter without misting system	27,2±0,75	30,4±0,73*	68,5±2,72

Температурні коливання значною мірою впливають на витрати енергії на тепловіддачу організму тварин. Результати наших досліджень підтвердили, що підвищення температури навколишнього середовища і, відповідно, ТВІ вплинуло на витрати енергії на тепловіддачу організму. У корівнику з системами вентиляції повітря ці витрати становили 63,1 МДж, що на 5,4 МДж менше порівняно з корівником на глибокій підстилці без систем вентиляції.

Результати наших досліджень співпадають з результатами [11], котрі вказують, що у приміщеннях, де використовували системи вентиляції повітря, витрати енергії на тепловіддачу організму тварин знижувались у періоди високих температур.

Висновки

Використання систем охолодження повітря у легкозбірних приміщеннях позитивно вплинуло на показники комфорту утримання корів у період тривалих високих температур та значень ТВІ. Використання цих засобів охолодження температури сприяло зниженню показника середньодобової температури повітря у приміщеннях на 5,3°C, значень біокліматичних індексів ІТН — на 1,63°C і ІЕТХ — на 1,11, витрат енергії на тепловіддачу організму корів — на 5,4 МДж. За використання засобів охолодження приміщень основні показники поведінки корів, котрі вказують на комфорт

утримання, — тривалість відпочинку лежачи та поїдання корму — були більшими, порівняно з утриманням на глибокій підстилці без систем охолодження повітря, на 68 хв. і 26 хв. відповідно. За варіантів утримання у приміщенні без використання систем охолодження повітря середня тривалість відпочинку лежачи була на 4 хв. коротшою від мінімального рекомендованого значення.

Перспективи подальших досліджень

Плануємо вивчити вплив елементів охолодження повітря у приміщеннях легкозбірного типу в періоди високих температур на продуктивні ознаки корів, а також на фізіологічний стан організму тварин — показники температури тіла, частоти пульсу й дихання тощо.

- Adamczyk K, Górecka-Bruzda A, Nowicki J, Gumułka M, Molik E, Schwarz T, Earley B, Klocek C. Perception of environment in farm animals — A review. *Ann. Anim. Sci.* 2015; 15: 565–589. DOI: 10.1515/aoas-2015-0031.
- Baeta FC, Meador NF, Shanklin MD, Johnson HD. Equivalent temperature index at temperatures above the thermoneutral for lactating cows. ASAE Paper No. 874015. *American Society of Agricultural Engineers (ASAE)*. St. Joseph, MI, 1987.
- Bernabucci U, Biffani S, Buggiotti L, Vitali A, Lacetera N, Nardone A. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2014; 97 (1): 471–486. DOI: 10.3168/jds.2013-6611.
- Bertocchi L, Vitali A, Lacetera N, Nardone A, Varisco G, Bernabucci U. Seasonal variations in the composition of Holstein cow's milk

- and temperature–humidity index relationship. *Animal*. 2014; 8 (4): 667–674. DOI: 10.1017/S1751731114000032.
5. Borshch OO, Borshch OV, Sobolev OI, Nadtochii VM, Slusar MV, Gutyj BV, Polishchuk SA, Malina VV, Korol AP, Korol-Bezypala LP, Bezpalnyi IF, Cherniavskiy OO. Wind speed in easily assembled premises with different design constructions for side curtains in winter. *Ukr. J. Ecol*. 2021; 11 (1): 325–328. DOI: 10.15421/2021_49.
 6. Borshch OO, Gutyj BV, Borshch OV, Sobolev OI, Chernyuk SV, Rudenko OP, Kalyn BM, Lytvyn NA, Savchuk LB, Kit LP, Nahimiak TB, Kropyvka SI, Pundyak TO. Environmental pollution caused by the manure storage. *Ukr. J. Ecol*. 2020; 10 (3): 110–114. DOI: 10.15421/2020_142.
 7. Borshch OO, Ruban SY, Gutyj BV, Borshch OV, Sobolev OI, Kosior LT, Fedorchenko MM, Kirii AA, Pivtorak YI, Salamakha IY, Hordiichuk NM, Hordiichuk LM, Kamratska OI, Denkovich BS. Comfort and cow behavior during periods of intense precipitation. *Ukr. J. Ecol*. 2020; 10 (6): 98–102. DOI: 10.15421/2020_265.
 8. Borshch OO, Ruban S, Borshch OV. Review: the influence of genotypic and phenotypic factors on the comfort and welfare rates of cows during the period of global climate changes. *Agraarteadus J. Agr. Sci*. 2021; 32 (1): 25–34. DOI: 10.15159/jas.21.12.
 9. Calegari F, Calamari L, Frazzi E. Fan cooling of the resting area in a free stalls dairy barn. *Internat. J. Biometeorol*. 2014; 58: 1225–1236. DOI: 10.1007/s00484-013-0716-1.
 10. Chen JM, Schütz KE, Tucker CB. Cooling cows efficiently with sprinklers: Physiological responses to water spray. *J. Dairy Sci*. 2015; 98 (10): 6925–6938. DOI: 10.3168/jds.2015-9434.
 11. Chen JM, Schütz KE, Tucker CB. Cooling cows efficiently with water spray: Behavioral, physiological, and production responses to sprinklers at the feed bunk. *J. Dairy Sci*. 2016; 99 (6): 4607–4618. DOI: 10.3168/jds.2015-10714.
 12. Das R, Sailo L, Verma N, Bharti P, Saikia J, Imtiwati Kumar R. Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review. *Vet. World*. 2016; 9 (3): 260–268. DOI: 10.14202/vetworld.2016.260-268.
 13. Dikmen S, Hansen PJ. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? *J. Dairy Sci*. 2009; 92 (1): 109–116. DOI: 10.3168/jds.2008-1370.
 14. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): The Impact of Disasters on Agriculture — Assessing the information gap. 2017. Available at: <http://www.fao.org/3/a-i2729e.pdf> (last accessed: 21.12.2020).
 15. Herbut P, Angrecka S. Relationship between THI level and dairy cows' behaviour during summer period. *Ital. J. Anim. Sci*. 2018; 17 (1): 226–233. DOI: 10.1080/1828051X.2017.1333892.
 16. Hulsen J. *Cow signals. A practical guide for dairy farm management*. 2006: 96 p. ISBN 9789075280654.
 17. Kadzere CT, Murphy MR, Silanikove N, Maltz E. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Prod. Sci*. 2002; 77 (1): 59–91. DOI: 10.1016/S0301-6226(01)00330-X.
 18. Krawczel P, Grant R. Effect of cow comfort on milk quality, productivity and behavior. *48th Annual Meet. Natl. Mastit. Counc.* Charlotte, NC. National Mastitis Council, Verona, WI., 2009; 15–24.
 19. Ortiz XA, Smith JF, Villar F, Hall L, Allen J, Oddy A, Al-Haddad A, Lyle P, Collier RJ. A comparison of 2 evaporative cooling systems on a commercial dairy farm in Saudi Arabia. *J. Dairy Sci*. 2015; 98 (12): 8710–8722. DOI: 10.3168/jds.2015-9616.
 20. Ruban S, Borshch OO, Borshch OV, Orischuk O, Balatskiy Y, Fedorchenko M, Kachan A, Zlochevskiy M. The impact of high temperatures on respiration rate, breathing condition and productivity of dairy cows in different production systems. *Anim. Sci. Paper. Rep*. 2020; 38 (1): 61–72. Available at: <http://a192.fsi.pl/uploaded/FSiBundleContentBlockBundleModelTranslatableBlockTranslatableFilesElement/filePath/1587/str61-72.pdf>
 21. Shiao TF, Chen JC, Yang DW, Lee SN, Lee CF, Cheng WTK. Feasibility assessment of a tunnel-ventilated, water-padded barn on alleviation of heat stress for lactating holstein cows in a humid area. *J. Dairy Sci*. 2011; 94 (11): 5393–5404. DOI: 10.3168/jds.2010-3730.
 22. Vatskyi VF. *Biometrics algorithms*. Guidelines. Poltava, 2005: 19 p. (in Ukrainian)
 23. Wang X, Gao H, Gebremedhin KG, Bjerg BS, Van Os J, Tucker CB, Zhang G. A predictive model of equivalent temperature index for dairy cattle (ETIC). *J. Therm. Biol*. 2018; 76: 165–170. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2018.07.013.
 24. WMO Statement on the state of the global climate in 2017. No. 1212, World Meteorological Organization (WMO), Geneva, Switzerland, 2018: 40 p.

Influence of the use of air cooling means in easily assembled premises on the behavior and comfort of cows during high temperatures

O. O. Borshch^{1,2}, S. Yu. Ruban², O. V. Borshch¹, M. M. Fedorchenko¹
borshcha@outlook.com

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

²National University of Life and Environmental Science of Ukraine,
15 Heroyiv Oborony str., Kyiv, 03041, Ukraine

The aim of this work was to study the influence of the use of air cooling means in easily assembled premises on the behavior and comfort of cows during periods of dangerous value of the temperature-humidity index (THI). The research was conducted during July 2020 in the central part of Ukraine (Kyiv region, Bila Tserkva district) during a long high-temperature load. The value of the daily ambient air temperature ranged from +19 to +34°C, and the relative humidity was 46–78%. Two farms with loose cows and different animal comfort options were selected for the study. The first option is to be loose in an easy-to-assemble room with fans installed above the aft table to cool the air. Fan hours from 12:00 to 17:00. The second option is loose keeping in an easy-to-assemble room on a deep, long-lasting straw litter. It was found that the use of ventilation systems allowed to reduce by 5.3°C the average daily values of air temperature compared to keeping on deep litter without ventilation systems. The values equivalent temperature index (ETI) and the index of equivalent temperature for cattle (ETIC), which indicate the level of sensitivity of the body during prolonged high temperatures, were lower by 1.63°C, and ETIC by 1.11 compared to keeping in deep litter without systems ventilation. The duration of lying down under the option of keeping cows using air cooling elements was higher by 68 min/day compared to keeping on deep litter without air cooling elements. In a cowshed with ventilation systems, the energy consumption for heat transfer of the body was 63.1 MJ, which is 5.4 MJ lower than in a cowshed on deep litter without the use of ventilation systems.

Key words: dairy cows, high temperatures, prefabricated premises, ventilation systems, behavior, comfort

Borshch OO, Ruban SY, Borshch OV, Fedorchenko MM. Influence of the use of air cooling means in easily assembled premises on the behavior and comfort of cows during high temperatures. *Biol. Tvarin*. 2021; 23 (4): 15–19. DOI: 10.15407/animbiol23.04.015.



Генеалогічні лінії в орловській рисистій породі коней української частини популяції

I. В. Ткачова¹, Г. О. Фролова²

tkachova_i@i.ua

¹Інститут тваринництва НААН,
вул. Тваринників, 1А, м. Харків, 61026, Україна

²Державне підприємство «Агентство ідентифікації та реєстрації тварин»,
вул. Сім'ї Хохлових, 15, кім. 406, м. Київ, 04119, Україна

Висвітлено результати генеалогічного аналізу вітчизняної популяції коней орловської рисистої породи. Загальне поголів'я породи на час обстеження становило 653, зокрема 267 племінних кобил. Найбільша кількість коней у Запорізькому кінному заводі №86 (29,6% племінних кобил). Аналіз генеалогічної структури репродуктивного поголів'я породи показав перевагу жеребців трьох ліній: Барчука (гілка Запада, 28,1%), Пілота (18,8%), Воїна (15,6%). Маточне поголів'я переважно належить до ліній Барчука (гілка Запада, 30,7%), Піона (22,1%), Пілота (15,7%). Маточне поголів'я Дібрівського кінного заводу представлене переважно кобилами лінії Піона (41,2%), Запорізького кінного заводу — лінії Барчука (гілки Запада, 29,1%), Ісполнительного (22,8%), Піона (20,3%). У Лимарівському кінному заводі більшість кобил походить з ліній Барчука (гілка Запада, 35,5%), Пілота і Піона (по 25,8%). Лозівський кінний завод укомплектований матками переважно лінії Барчука (гілка Запада, 38,2%), Пілота (23,5%) і Ветра (20,6%). Найбільший племінний репродуктор ПСП «Комишанське» укомплектований переважно матками лінії Барчука (гілки Запада, 51,2%), Піона (22,0%) і Пілота (17,1%). Аналіз генеалогічних ліній української частини популяції орловської рисистої породи показав, що за наявності жеребців-плідників і ремонтних жеребців найбільший розвиток отримала генеалогічна лінія Барчука, з якої відокремлено нову розгалуженішу гілку Запада, до якої належать 28,1% жеребців і 30,7% кобил. Племінне ядро зазначеної генеалогічної лінії зосереджене в усіх кінних заводах з розведення орловської рисистої породи (базові господарства), а також у племінних репродукторах та у власників коней — фізичних осіб. Таким чином є передумова апробації генеалогічної лінії Запада в українській частині популяції орловської рисистої породи коней.

Ключові слова: коні, орловська рисиста порода, генеалогічна структура, репродуктивне поголів'я, селекція, популяція

Орловська рисиста порода вважається найстарішою з порід коней рисистого напрямку, початок її створення — 1776 р. Вона суттєво вплинула на розвиток призового (бігового) спорту і кіннозаводства взагалі [5]. Породу створено завдяки вдалому відтворювальному схрещуванню кращих порід коней XVIII ст. (арабської, данської, голландської, чистокровної верхової, мекленбурзької, норфолькської), раціональному добору та підбору, а також систематичному тренінгу і біговим випробуванням на довгі дистанції [11]. На території України найбільшим і найдавнішим кінним заводом, який розводив коней орловської рисистої породи, був завод

Великого Князя Дмитра Костянтиновича Полтавської губернії (сучасний Дібрівський кінний завод), заснований у 1888 р., що нараховував 40 жеребців-плідників і 200 племінних кобил [8]. До кінця XIX ст. орловська порода була найжвавішою з конейпряжного типу [3], але згодом поступилася американській стандартбредній породі, консолідованій на максимальну жвавість на короткі дистанції [1]. Втім, орловський рисак, поступившись жвавістю, не втратив свого оригінального типу, екстер'єру, конституційних особливостей, адаптованості до мінливого клімату, дистанційності і сьогодні користується аматорською популярністю [2, 4].

Сучасна вітчизняна популяція коней орловської рисистої породи під впливом селекційного процесу набула особливих рис, що надає їй унікальності і змоги до подальшого розведення в умовах обмеженого генофонду [9], що визначає актуальність досліджень.

Матеріали та методи

Матеріалом для досліджень слугувала база даних орловської рисистої породи української популяції, сформована за даними первинного племінного обліку та результатами обстеження поголів'я (n=653). Науково-методичні підходи базувались на

зоотехнічному та генеалогічному аналізі масиву коней орловської породи. Усе репродуктивне поголів'я розподілене за лінійною належністю методом сімейного аналізу на основі побудови родоводів.

Результати досліджень

Орловська рисиста порода за кількістю поголів'я посідає третє місце у структурі порід коней України. Провідними суб'єктами племінної справи за її розведення є державні кінні заводи — філії ДП «Конярство України»: Запорізький кінний завод №86, Дібрівський кінний завод №62, Лозівський кінний завод №124 і Лимарівський кінний завод №61 (табл. 1).

Таблиця 1. Структура поголів'я орловської рисистої породи України (на 01.01.2021 р.)
Table 1. Structure of the Orlov Trotter breed population in Ukraine (01.01.2021)

Суб'єкти племінної справи Subjects of breeding business	Статеві-вікові групи / Sex and age groups							
	жеребці-плідники stallions		племінні кобили mares		ремонтний молодняк repair young horses		лошата 2020 року народження foals born in 2020	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Запорізький кінний завод №86 Zaporizhzhya stud no. 86	3	10,4	54	26,0	11	9,6	33	32,4
Дібрівський кінний завод №62 Dibrivka stud no. 62	3	10,4	32	15,4	13	11,3	21	20,6
Лозівський кінний завод №124 Lozova stud no. 124	4	13,8	30	14,4	5	4,3	13	12,7
Лимарівський кінний завод №61 Lymarivka stud no. 61	5	17,2	27	13,0	7	6,1	13	12,7
ПСП «Комишанське» Private agrarian enterprise "Komyshanske"	5	17,2	25	12,0	57	49,6	19	18,6
Фізичні особи / Private owners	9	31,0	40	19,2	22	19,1	3	3,0
Всього / Total	29	100,0	208	100,0	115	100,0	102	100,0

Загальне поголів'я породи на час обстеження становило 454, зокрема 208 племінних кобил. Найбільша кількість коней — у Запорізькому кінному заводі №86 (26% племінних кобил).

Аналіз генеалогічної структури репродуктивного поголів'я породи (табл. 2) показав перевагу жеребців трьох ліній: Барчука (гілка Запада, 28,1%), Пілота (18,8%), Воїна (15,6%). Порівняно з попереднім 10-річним періодом, генеалогічна структура орловської рисистої породи змінилась: у 2009 р. більшість жеребців-плідників належали до генеалогічних ліній Піона (24,1%) і Пілота (24,1%) [10]. Зазначена лінійна структура подібна до популяції країни-оригінатора. Цікаво, що, наприклад, у Болгарії орловську рисисту породу структурували за зовсім іншими генеалогічними лініями: Вороньонок, Степенний, Чернію, Блудлівий, Васільчик, Меч, Зефір [6].

Маточне поголів'я переважно належить до ліній Барчука (гілка Запада, 30,7%), Піона (22,1%), Пілота (15,7%) (табл. 3).

Маточне поголів'я Дібрівського кінного заводу представлено переважно кобилами лінії Піона (41,2%), Запорізького кінного заводу — лінії Барчука (гілки Запада, 29,1%), Ісполнительного (22,8%), Піона (20,3%).

У Лимарівському кінному заводі більшість кобил належать до ліній Барчука (гілка Запада, 35,5%), Пілота і Піона (по 25,8%).

Лозівський кінний завод укомплектований матками переважно лінії Барчука (гілка Запада, 38,2%), Пілота (23,5%) і Ветра (20,6%).

Найбільший племінний репродуктор ПСП «Комишанське» укомплектований переважно матками лінії Барчука (гілки Запада, 51,2%), Піона (22,0%) і Пілота (17,1%).

Аналіз схем генеалогічних ліній показав, що з найчисленнішої лінії Барчука можна виділити гілку Запада як окреме генеалогічне відгалуження, представлене 28,1% жеребців і 32,6% кобил усієї популяції (рис. 1–9).

Племінним законодавством України передбачене виведення нової генеалогічної лінії за наявності не менше 1 базового господарства, 5 жеребців-плідників з двох відгалужень і 30 племінних кобил [7]. Племінне ядро гілки Запада зосереджене в усіх чотирьох кінних заводах з розведення орловської рисистої породи (базові господарства), а також у племінних репродукторах і в приватних власників.

У генеалогічному відгалуженні Запада налічується 9 ліцензованих жеребців-плідників з відгалужень 9537 Бензола і 10173 Позива і 78 племінних кобил з різних маточних родин. Наявність ремонтного молодняка у відгалуженні передбачає його подальший розвиток. Тому виникла необхідність виокремити в орловській рисистій породі лінію Запада.

Щодо решти генеалогічних ліній, то вони (окрім Пілота і Воїна) у загрозовому становищі, оскільки представлені трьома і менше жеребцями-плідниками, і без виведення нових плідників (або придбання їх за кордоном) можливе звуження генеалогічної структури породи і зникнення ліній, як це сталося з лінією Іппіка.

Таблиця 2. Генеалогічна структура племінного поголів'я орловської рисистої породи
Table 2. Genealogical structure of the breeding composition of the Orlov Trotter breed

Лінії / Lines	Жеребці Stallions		Кобили Mares	
	n	%	n	%
Барчука / Barchuk	1	3,1	24	9,0
Барчука-Запада / Barchuk-Zapad	9	28,2	82	30,7
Болтика / Boltik	2	6,2	6	2,2
Ветра / Veter	3	9,3	10	3,7
Воїна / Voyin	5	15,7	11	4,1
Іппіка / Ippik	–	–	1	0,4
Ісполнительного / Ispolnitelny	1	3,1	21	7,9
Отбоя / Otboy	1	3,1	8	3,1
Пілота / Pilot	6	18,9	42	15,7
Піона / Pion	3	9,3	59	22,1
Пролива / Proliv	1	3,1	3	1,1
Всього / Total	32	100,0	267	100,0

Таблиця 3. Розподіл племінних кобил за лініями, n
Table 3. Distribution of breeding mares by lines, n

Лінії Lines	Кінні заводи Studs				Племінні репродуктори Breeding farms	Фізичні особи Private owners	Всього Total
	Дібрівський Dibriv	Запорізький Zaporizhzhya	Лимарівський Lymarivka	Лозівський Lozova	ПСП «Комішанське» Private agrarian enterprise "Komyshanske"		
Барчука / Barchuk	5	13	1	1	1	3	24
Барчука-Запада / Barchuk-Zapad	4	23	11	13	21	9	81
Болтика / Boltik	3	–	–	–	1	1	5
Ветра / Veter	–	–	–	7	1	2	10
Воїна / Voyin	1	4	–	1	–	5	11
Іппіка / Ippik	–	–	–	–	1	–	1
Ісполнительного / Ispolnitelny	1	18	–	1	–	1	21
Отбоя / Otboy	3	–	2	2	–	1	8
Пілота / Pilot	3	5	8	8	7	10	41
Піона / Pion	14	16	8	–	9	7	54
Пролива / Proliv	–	–	1	1	–	1	3
Всього / Total	34	79	31	34	41	40	259
%	13,1	30,5	12,1	13,1	15,8	15,4	100

- 52 БАРЧУК** 2.12,0, гн., 1912 (Барин Молодий — Молнія)
 1273 Додирь 2.20,1, гн., 1926 (м. 255 Дань)
 2602 Горизонт 3.24,1, св.-гн., 1931 (м. 220 Гичка)
 6333 Гіт 2.10, гн., 1949 (м. 4680 Трещьотка)
 8531 Клад 2.11,5, сір., 1957 (м. 6223 Карга)
 9086 Гик 2.08,8, сір., 1965 (м. 12195 Гавань)
 10231 Трагік 2.07,1, сір., 1975 (14757 Толока)
 10898 Шатьор 2.06,1, сір., 1983 (м. 16248 Широта)
 11604 Шквал 2.07,6, сір., 1998 (м.18006 Вечеринка)*
 1741 Мох 2.06,1, 1929 (м. 2215 Мурава)
 6122 Емігрант 2.28, 1941 (м. 4840 Еволюція)
 7473 День 2.07, 1947 (м. 5566 Дань)
8450 ЗАПАД 2.06,7, гн., 1959 (м. 8879 Заїмка)
 9537 Бензол 2.06,3, 1972 (м. 13467 Бесподобная)
 10747 Кабул 2.06,1, 1985 (м. 15929 Кружка)
 11492 Уклон 2.04,1, гн., 1996 (м. 16965 Українка)
 11781 Кулон 2.04,8, гн., 2002 (м. 19069 Калька)
 12005 Ізбраннік 2.27,0, сір., 2008 (м. 21641 Імарта)*
 Пуск, вор., 2014 (м. 20533 Політика)*
 10173 Позив 2.07,9, гн., 1976 (м. 15428 Пепенка)
 11429 Кок-Пар 2.17, гн., 1995 (м. 18166 Куниця)
 12242 Факел 2.09,5, т.-гн., 2003 (м. 18341 Феба)
 12014 Іскрометний 2.06,8, вор., 2005 (м. 18081 Інфра)*
 11449 Малиновий Звон 2.06,6, гн., 1995 (м. 18201 Малина)
 12111 Бамбіно 2.04,5, гн., 2002 (м. 19206 Боярщина)
 Волейбол 2.09,2, сір., 2011 (м. 19869 Ванда)*
 12245 Фрагмент 2.11,8, т.-гн., 2003 (м. 19785 Філіппінка)*
 12110 Есминець 2.07,1, сір., 2003 (м. 19814 Ехо)*

Рис. 1. Схема лінії Барчука-Запада
Fig. 1. Scheme of the Barchuk-Zapad line

Примітка. Тут і далі * — чинні жеребці-плідники.
Note. Here and further * — actual stallions.

- 8268 БОЛТИК** 2.09,6, сір., 1958 (Уверенний — Беседа)
 10027 Кубик 2.04, сір., 1969 (м. 12663 Крепость)
 010920 Наместнік, вор., 1981 (м. 014651 Набивка)
 11542 Каньйон 2.01,2, вор., 1993 (м. 17472 Конопля)
 11993 Заводчик 2.01,9, сір., 2005 (м. 18045 Заварка)*
 10920 Тюрбан 2.07, сір., 1974 (м. 13255 Трущоба)
 11219 Романтик 2.09,3, сір., 1992 (м. 16909 Рукавичка)
 11714 Арарат 2.10,2, сір., 2001 (м. 18721 Албанія)*

Рис. 2. Схема лінії 8268 Болтика
Fig. 2. Scheme of the Boltik line

- 4182 ВЕТЕР** 2.10,7, гн., 1939 (Бубенчик — Вітрогонка)
 6301 Вспильчівий 2.06,5, гн., 1949 (м. 4459 Пилинка)
 9687 Люмінал 2.08,0, вор., 1965 (м. 11411 Ліквідація)
 10994 Ліловий 2.09,7, сір., 1984 (м. 16671 Лібералка)
 11476 Полонез 2.07,2, вор., 1994 (м. 18262 Подруга)
 12230 Рапс 2.15,0, сір., 2004 (м. 19469 Коста-Ріка)*
 12244 Фліп 2.08,8, вор., 2004 (м. 18341 Феба)*
 Жакоп 2.23,0, т.-гн., 2005 (м. Жар-Птиця)*

Рис. 3. Схема лінії Ветра
Fig. 3. Scheme of the Veter line

185 ВОЇН 4.36,0, сір., 1918 (Птенец — Війна)
3522 ПОСОЛ 2.16,2, сір., 1935 (м. 1152 Афіна Паллада)
 7011 Ріон 2.05,1, сір., 1948 (м. 7521 Роковая)
 8067 Самородок 2.07,2, гн., 1955 (м. 10306 Саломея)
 9433 Риск 2.06,7, сір., 1967 (м. 13138 Расплата)
 10947 Картьожник 2.07,9, чер.-сір., 1983 (м. 16573 Княжна)
 11155 Лукомор 2.07, гн., 1993 (м. 17237 Лаплата)
 11819 Пльос 2.05,2, руд., 1999 (м. 19125 Пісня)
 Днепр 2.08,6, гн., 2009 (м. 21572 Дарниця)
 11758 Іл 2.10,0, гн., 2001 (м. 17911 Іванна)
 Плющ 2.07,6, сір., 2013 (м. 21829 Помощь)
 Каботажний Груз Алтая 2.07,3, сір., 2004 (м. 19955 Істина)
 Железний 2.05,8, гн., 2007 (м. 20719 Жара)

Рис. 4. Схема лінії Воїна
Fig. 4. Scheme of the Voyin line

8501 ІСПОЛНІТЕЛЬНИЙ 2.09,2, сір., 1960 (6669 Лабрадор — 11172 Інкубація)
 9758 Приказ 2.04,0, сір., 1969 (м. 11628 Перебєжка)
 10290 Біполяр 2.06,2, сір., 1980 (м. 12058 Брілліантка)
 10954 Абатур 2.07,9, вор., 1989 (м. 17006 Арабіка)
 11962 Чардаш 2.10,0, вор., 2004 (м. 17658 Чайка)*

Рис. 5. Схема лінії Ісполнительного
Fig. 5. Scheme of the Ispolnitelny line

5493 ОТБОЙ 2.14,1, сір., 1934 (1107 Бурелом — 744 Опора)
 6616 Корсар 2.08,4, сір., 1946 (м. 3717 Колоністка)
 8477 Івняк 2.07,4, сір., 1957 (м. 9036 Ілюмінація)
 9732 Персид 2.04,6, сір., 1968 (м. 12994 Перкусія)
 11002 Метоп 2.04,9, сір., 1986 (м. 16754 Мисль)
 11877 Ібрагим 2.05,6, сір., 2000 (м. 19377 Іва)
 Лідер 2.06,3, сір., 2009 (м. 21343 Ліства)*

Рис. 6. Схема лінії Отбоя
Fig. 6. Scheme of the Otboy line

9380 ПІОН 2.00,1, сір., 1966 (7944 Отклік — 11676 Пріданніца)
 10179 Помпей 2.02,4, т.-гн., 1974 (м. 14589 Привичка)
 10615 Кіпр 2.03,5, гн., 1982 (м. 14151 Крутизна)
 11300 Лакей сір., 1993 (м. 17100 Лєска)
 11919 Нил 2.09,9, гн., 2004 (м. 19597 Норма)*
 12103 Фестиваль 2.07,8, сір., 2005 (м. 024720 Феміда)
 Жофрей 2.12,6, сір., 2014 (м. Живописна)*
 1 ПО Фагот 2.02,3, сір., 1980 (м. Фабула)
 11255 Афоризм 2.02,1, вор., 1994 (м. 17006 Арабіка)
 11841 Фінал 2.06,5, сір., 1995 (м. 17006 Арабіка)
 Кайф 2.11,2, вор., 2010 (м. 21254 Кипа)*

Рис. 7. Схема лінії Піона
Fig. 7. Scheme of the Pion line

3479 ПІЛОТ 2.02,2, гн., 1932 (01307 Гіацинт — 2325 Пеночка)
 8001 Подвиг 2.08,5, 1952 (м. Дань)
 8767 Перепел 2.09,1, 1961 (м. 8767 Пуля)
 9207 Карапет 2.08,2, сір., 1968 (м. 9140 Капарча)
 11030 Приказ 2.22,0, вор., 1985 (м. 17562 Патока)
 Крестовий Поход 2.04,9, гн., 1996 (м. 13 ПО Кавалерія)
 Рекс 2.07,0, сір., 2006 (м. 19469 Коста-Ріка)
 Альпако 2.09,1, вор., 1997 (м. 11 ПО Апсни)
 Рахмат, вор., 2003 (м. Коста-Ріка)
 11662 Композитор 2.04, т.-сір., 1998 (м. Команда)
 12235 Сокол 2.08,5, вор., 2005 (м. 20578 Символіка)
 Цельсій 2.06,1, сір., 2014 (м. Цариця)
 11830 Фабіано 2.06,8, т.-сір., 1999 (м. 19783 Фіалка)
 12135 Даф 2.09,6, вор., 2008 (м. 20713 Добрая Фея)
 9247 Красавчик 2.11,2, 1964 (м. 11199 Казна)
 10018 Комок 2.08, сір., 1975 (м. 15186 Кераміка)
 10619 Крикун 2.05,0, сір., 1984 (м. 16585 Коломна)
 11740 Вулкан 2.04,6, чер.-сір., 2002 (м. 18001 Вамба)
 Жаворонок 2.07,2, сір., 2013 (м. Живописна)
 6999 Пустяк 2.14,5, сір., 1949 (м. 6150 Колядка)
 8418 Жар 2.04,5, сір., 1963 (м. 11076 Жимолость)
 11119 Іжорск 2.07,3, сір., 1984 (м. 15132 Інкрустація)
 12168 Ківер 2.02,4, чер.-сір., 2006 (м. 19438 Квінта)

Рис. 8. Схема лінії Пілота
Fig. 8. Scheme of the Pilot line

5686 ПРОЛИВ 2.11,2, вор., 1940 (158 Ветерок — 4333 Плотина)
 4646 Квадрат 2.08,1, гн., 1946 (м. 3673 Кераміка)
 8573 Кредит 2.11,0, гн., 1952 (м. 6094 Іскра)
 9016 Боксер 2.09,8, сір., 1966 (м. 12006 Беглая)
 9963 Звоник 2.06,5, сір., 1972 (м. 12388 Занавеска)
 10800 Лозунг 2.06,2, сір., 1981 (м. 15293 Ліньовка)
 Флоріано 2.06,4, гн., 1998 (м. 18341 Феба)

Рис. 9. Схема лінії Пролива
Fig. 9. Scheme of the Proliv line

Висновки

Найчисленнішою генеалогічною лінією в орловській рисистій породі вітчизняної частини популяції є лінія Барчука з більш розгалуженою гілкою Запада, до якої належать 28,1% жеребців і 30,7% кобил. Племінне ядро лінії зосереджене у чотирьох кінних заводах з розведення орловської рисистої породи (базові господарства), а також у племінних репродукторах та у власників коней — фізичних осіб. Генеалогічне відгалуження Запада представлено нащадками 9537 Бензола і 10173 Позива, зокрема 9 жеребців-плідників, допущених до племінного використання, і 78 племінних кобил.

Перспективи подальших досліджень

Планується детальніше вивчення нового генеалогічного відгалуження в орловській рисистій породі, формування й апробація генеалогічної лінії Запада. Також передбачена розробка заходів із популяризації та збереження унікального генофонду орловської рисистої породи української субпопуляції.

1. Carmalt JL, Borg H, Näslund H, Waldner C. Racing performance of Swedish Standardbred trotting horses with proximal palmar/plantar first phalangeal (Birkeland) fragments compared to fragment free controls. *Vet. J.* 2014; 202 (1): 43–47. DOI: 10.1016/j.tvjl.2014.07.017.

2. Hopka BM, Burenko AV, Shapoval VM. Agility and precocity of Orlov Trotters. *Sci. Messenger NAU*. 2007; 114: 45–52. (in Ukrainian)
3. Hromova TV, Asanov SS. Evaluation of origin influence on performance of Orlov Trotter breed horses. *Messenger Altai State Agr. Univ.* 2017; 10 (156): 121–125. Available at: <http://www.asau.ru/vestnik/2017/10/121-125.pdf> (in Russian)
4. Kornienko OO. Estimation of selection methods at improvement of Russian Trotter breed horses. *Sci. Tech. Bull. Inst. Anim. Sci. NAAS*. Kharkiv, 2012; 106: 54–60. (in Ukrainian)
5. Kozhevnykov EV. From the history of domestic horse breeding. *Horse breed. horse sport*. 1987 (11): 30–31. (in Russian)
6. Lukanova N. Development on genealogic lines in Orlov Trotter in Bulgaria. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2016, 5 (9): 611–616. DOI: 10.20546/ijcmas.2016.509.069.
7. On approval of regulations on selection achievements approbation and registration in animal husbandry. Order of Ministry of Agrarian policy of Ukraine no. 385 from 02.07.2012: 13 p. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1217-12#Text> (in Ukrainian)
8. Rozhdestvenskaia HA. *Orlov's Trotter*. Moscow, Akvarium BUK, 2003: 160 p. (in Russian)
9. Tkachova IV, Rossokha VI, Tkachenko OO, Liutykh SV, Kovalova TO, Tur HM, Kovalova TM, Shkavro NM, Brovko OV, Hdanska KV, Zaderykhina OA. *Breeding and genetic monitoring in horse breeding*. A monograph. Ed. by. IV Tkachova. Kyiv, Ahrama nauka, 2018: 238 p. (in Ukrainian)
10. Tkachova IV. Modern linear structure of Orlov Trotter in Ukraine. *Sci. Tech. Bull. Inst. Anim. Sci. NAAS*. Kharkiv, 2009; 101: 127–138. (in Ukrainian)
11. Vytt VO. *From the history of Russian horse breeding. Creation of new breeds of horses at the turn of the XVIII–XIX centuries*. Moscow, Selkhozdat, 1952: 359 p. (in Russian)

Genealogical lines in the Orlov Trotter breed horses of the Ukrainian part of the population

I. V. Tkachova¹, A. A. Frolova²
tkachova_i@i.ua

¹Institute of Animal Science NAAS,
1A Tvarynykiv str., Kharkiv, 61026, Ukraine

²State enterprise "Agency of animal identification and registration",
15 Simyi Hohlovih str., office 406, Kyiv, 04119, Ukraine

The article presents the results of the genealogical analysis of Ukrainian population of horses Orlov's Trotter breed. The total number of the breed at the time of the survey was 653 horses, including 267 mares. The largest number of horses is in Zaporizhzhya stud no. 86 (29.6% mares). Analysis of the genealogical structure of the breed's reproductive composition showed the advantage of stallions of three lines: Barchuk (branch of the Zapad, 28.1%), Pilot (18.8%), and Voin (15.6%). The mother composition mainly refers to the lines of Barchuk (branch of the Zapad, 30.7%), Pion (22.1%), Pilot (15.7%). The breeding stock of the Dibrivka stud is represented mainly by mares of the Pion line (41.2%), the Zaporozhsky stud — Barchuk line (a branch of the Zapad, 29.1%), Ispolnitielnyi (22.8%), and Pion (20.3%). In Lymarivka stud, most mares belong to the lines of Barchuk (branch of the Zapad, 35.5%), Pilot, Pion (25.8% each). Lozova stud is equipped with mares mainly of the Barchuk line (branch of the Zapad, 38.2%), Pilot (23.5%) and Veter (20.6%). The largest breeding reproducer of the "Komyshanske" private agrarian enterprise is equipped mainly with mares of the Barchuk line (branch of the Zapad, 51.2%), Pion (22.0%) and Pilot (17.1%). Analysis of the Ukrainian part of the Orlov Trotter breed population genealogical lines showed that in the presence of breeding and repair stallions, the greatest development was received by the Barchuk genealogical line, from which a new, more branched branch of the Zapad is separated, which 28.1% of stallions and 30.7% of mares belong to. The breeding core of this genealogical line is concentrated in all stud farms for breeding the Orlov Trotter breed (basic farms), as well as in breeding reproducers and individual horse owners. Thus, there is a prerequisite for testing the genealogical line of the West in the Ukrainian part of the population of the Orlov Trotter horse breed.

Key words: horses, Orlov Trotter breed, genealogical structure, reproductive composition, selection, population



Поліморфізм гена бета-лактоглобуліну (BLG) у корів молочних порід української і зарубіжної селекції

I. Д. Митюгло

ilia.mitioglo77@gmail.com

Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН,
вул. Погребняка, 1, с. Чубинське, Бориспільський р-н, Київська обл., 08321, Україна

Метою роботи було дослідження поліморфізму гена бета-лактоглобуліну у корів української червоно-рябої молочної і монбельярдської порід та тварин, отриманих внаслідок схрещування місцевої української червоно-рябої молочної породи з бугаями монбельярдської породи та його зв'язок із молочною продуктивністю. Для дослідження відібрані проби крові у первісток української-червоно-рябої породи і помісей (ДП «ДГ «Нива» Інституту розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН») та у корів монбельярдської породи (ПСП «Жадківське» Чернігівської обл.) із закінченою першою лактацією. Для дослідження одноступінчастого поліморфізму гена бета-лактоглобуліну (BLG) використали метод ПЛР-ПДРФ з специфічними праймерами і рестриктазами. Молочну продуктивність корів визначали за контрольними доїннями. Статистичну обробку отриманих результатів досліджень здійснювали методами біологічної статистики з використанням комп'ютерної програми *Microsoft Excel*. У досліджених нами групах корів виявлені три варіанти генотипів за локусом гена бета-лактоглобуліну — гомозиготні AA і BB і гетерозиготний AB. У первісток монбельярдської породи і помісей української червоно-рябої молочної породи із монбельярдськими бугаями найчастіше траплялися тварини з генотипом AB (0,57 і 0,524), у групі української червоно-рябої молочної — гомозиготні носії генотипу BB з частотою 0,433. У особин української червоно-рябої молочної породи очікувана гетерозиготність (H_e) перевищує фактичну (H_o), що свідчить про зниження гетерозиготності у стаді корів цієї породи. У групах корів монбельярдської породи і помісей ситуація протилежна: фактична гетерозиготність перевищує очікувану і індекс фіксації має від'ємне значення. Аналіз молочної продуктивності корів трьох досліджених груп виявив одну і ту ж тенденцію: корови з генотипом AA за геном бета-лактоглобуліну переважали ровесниць з генотипами AA і AB. Найвищий надій за 305 днів першої лактації виявлено у корів-помісей з генотипом AA (6728 кг). Різниця за надоем у помісей з генотипами BB і AB склала 311 кг (5%) і 195 кг (3%) відповідно. Найвищі показники вмісту жиру виявлені у молоці первісток-помісей з генотипом AA, що на 0,1 і 0,75% вище, ніж у первісток з генотипом AA монбельярдської і української червоно-рябої молочної порід відповідно. Серед корів з генотипом AB найвища масова частка жиру виявлена у помісей (4,15%). Масова частка білка найвища у первісток з генотипом BB — 3,89%, на 0,51% переважала цей показник у корів монбельярдської породи і на 0,43% — в української червоно-рябої молочної породи. Отже, результати молекулярно-генетичного аналізу досліджених порід відображають специфічність генетичної структури за окремими локусами кількісних ознак, зокрема за геном бета-лактоглобуліну, що дає підстави для використання цієї закономірності з метою удосконалення селекційної роботи з породами молочної худоби.

Ключові слова: українська червоно-ряба молочна порода, монбельярдська порода, помісі, ген бета-лактоглобуліну, генотипи, алелі, молочна продуктивність

Полімеразна ланцюгова реакція дає змогу ідентифікувати поліморфізм білків у кодуючій послідовності відповідного гена незалежно від віку, статі і фізіологічного стану тварини [17]. Доцільність ви-

користання поліморфізму алелів генів, що кодують певні білки, як маркерів господарсько корисних ознак вже доведена науковцями і селекціонерами [18].

Такими маркерами молочної продуктивності у корів є низка генів молочних білків, зокрема поліморфізм гена бета-лактоглобуліну (BLG), який є основним сироватковим сірковмісним білком. Його біологічну функцію ще детально не визначили, тому припускають, що цей білок бере участь у метаболізмі фосфатів у вимені і перенесенні в кишечнику заліза, вітамінів, жирних кислот. Важливою технологічною властивістю білка BLG є реакція з казеїном, в результаті чого змінюється теплова стабільність молока і затримується процес сичужного згортання [7]. Білок BLG містить 162 амінокислоти [1]. Ген, що кодує бета-лактоглобулін, має довжину 4662 п.н., міститься в 11 хромосомі, складається із 7 екзонів і 6 інтронів [13]. Найчастіше трапляються алельні варіанти гена BLG — А і В і варіанти генотипів — АА, ВВ і АВ.

Алель А асоціюється із рівнем надою, вмістом сироваткових білків і загальним вмістом білків у молоці [3]. В алеля В простежується зв'язок із рівнем казеїнових білків і казеїнового коагуляту і з високою масовою часткою жиру в молоці [16]. Внаслідок міжпородних генетичних комбінацій білок BLG існує у двох алельних варіантах: за А-варіанту в його амінокислотній послідовності у 64 положенні міститься аспарагінова кислота, у В-варіанті в 118 положенні — амінокислоти валін і аланін [5].

Знання поліморфізму гена бета-лактоглобуліну дасть змогу селекціонерам покращити молочну продуктивність порід і стад великої рогатої худоби.

Метою роботи було дослідження поліморфізму гена бета-лактоглобуліну у корів української червоно-рябої молочної і монбельярдської порід та корів, отриманих внаслідок схрещування місцевої української червоно-рябої молочної породи з бугаями монбельярдської породи, та його зв'язок із молочною продуктивністю.

Матеріали і методи

Для дослідження відібрані проби крові у корів української червоно-рябої молочної породи (УЧеРМ, 30 гол.) і помісних корів, отриманих від схрещування української червоно-рябої породи з монбельярдською (УЧеРМ×М, 23 гол.) (ДП «ДГ «Нива» Інституту розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН) та у корів монбельярдської породи (М, 30 гол.) (ПСП «Жадківське» Чернігівської обл.) із завершеною першою лактацією. Всього досліджено 83 тварини.

Молекулярні дослідження виконані у відділі генетики і біотехнології тварин Інституту розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН.

Для дослідження одонуклеотидного поліморфізму гена бета-лактоглобуліну (BLG) використали метод ПЛР-ПДРФ зі специфічними праймерами і рестриктазами.

ДНК виділяли із лейкоцитів крові за стандартною методикою набором «ДНК-сорб-В» («Ампли-Сенс»,

РФ). Ампліфікацію фрагменту гена BLG проводили на термоциклері «Терцик» («ДНК-технології») з використанням таких праймерів:

5'-TGTGCTGGACACCGACTACAAAAAG-3';
5'-GCTCCCGGTATATGACCACCTCT-3» [15].

ПЛР-суміш (10 мл) складалась із: буфера для ДНК-полімерази (2 мкл), ДНК-полімерази («Fermentas», Литва, 0,2 мкл), трифосфатів (1 мкл), праймерів (0,8 мкл) деіонізованої води (4 мкл), ДНК (2 мкл). Температурний режим: початкова денатурація — 4 хв при 95°C, наступні 40 циклів — 95°C 30 сек., 58°C 30 сек., 72°C 1 хв., кінцевий синтез при 72°C 5 хв. Продукти ампліфікації розщеплювали ендонуклеазою Hae III. Число і довжину отриманих фрагментів продуктів рестрикції визначали електрофорезом у 3% агарозному гелі у буфері 1xTBE. Візуалізацію результатів проводили в УФ-світлі після фарбування гелю бромистим етидієм.

Молочну продуктивність корів визначали за контрольними доїннями.

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень здійснювали методами біологічної статистики з використанням комп'ютерної програми *Microsoft Excel*.

Результати й обговорення

Згідно з рис. 1 (а, б, в), у досліджених групах тварин у результаті полімеразної ланцюгової реакції нами отримані ампліфікати гена бета-лактоглобуліну розміром 262 пари нуклеотидів. Гомозиготному генотипу АА відповідають фрагменти рестрикції довжиною 153 і 109 пар нуклеотидів, для гетерозиготного генотипу АВ характерні фрагменти 153, 109 і 79/74 пар нуклеотидів.

У досліджених нами групах корів виявлені три варіанти генотипів за локусом гена бета-лактоглобуліну — гомозиготні АА і ВВ і гетерозиготний АВ (табл. 1).

Таблиця 1. Частота генотипів і алелей гена бета-лактоглобуліну (BLG) у досліджених корів-первісток
Table 1. Frequency of genotypes and alleles of the beta-lactoglobulin (BLG) gene in the studied cows

Показники Parameters	Порода / Breed		
	УЧеРМ URSD	М	УЧеРМ×М URSD×М
Генотипи, частоти / Genotypes, frequencies			
AA	0,200	0,200	0,095
AB	0,366	0,570	0,524
BB	0,433	0,230	0,381
Алелі, частоти / Alleles, frequencies			
A	0,383	0,480	0,357
B	0,616	0,520	0,643

Аналізуючи характер розподілу генотипів за геном бета-лактоглобуліну, варто зауважити, що у первісток монбельярдської породи і помісей УЧеРМ з монбельярдськими бугаями найчастіше зустрічались тварини з генотипом АВ. Достатньо високий рівень гетерозигот АВ (понад 0,5) у цих групах тварин свідчить про наявність значного резерву за алелем В гену бета-лактоглобуліну, який асоціюється із жирномолочністю.

У групі ж корів УЧеРМ найчастіше трапляються гомозиготні носії генотипу ВВ з частотою 0,433.

Щодо розподілу алелів А і В за геном бета-лактоглобуліну, спостерігається значна різниця між їх частотами. Частота алелю В у всіх досліджених груп переважає частоту алелю А. Найбільш виражена різниця між первістками УЧеРМ і помісей — майже вдвічі.

Алель А, який асоціюється із рівнем надою, вмістом сироваткових білків і загальним вмістом білків у молоці, має найменше значення у первісток УЧеРМ (0,383) серед усіх досліджених груп тварин, і то завдяки високому рівню гетерозиготних його носіїв у цій групі тварин. Дещо вищою (0,480) була частота алелю А у корів монбельярдської породи і майже на одному рівні із тваринами УЧеРМ була частота цього алелю у первісток УЧеРМ×М.

Інші дослідники теж вказували на переважання алеля В над алелем А у різних порід великої рогатої худоби, зокрема у чорно-рябої породи [14], джерсейської породи [1], румунських монбельярдів [6], польської чорно-рябої породи [11, 15] та індійських буйволів [12].

Результати досліджень іранських вчених показали, що частота В-алеля BLG у місцевої іранської худоби була значно вищою (0,9125), ніж частота А-алеля (0,0875). Частота генотипів АВ і ВВ становила 0,175 та 0,825 відповідно, тоді як генотип АА взагалі був відсутній [8, 9].

За повідомленням [2], у популяції української чорно-рябої молочної породи частіше траплялися корови з алелем А (0,650), ніж корови з алелем В (0,350).

Як видно із рис. 2, за геном бета-лактоглобуліну у групі корів УЧеРМ очікувана гетерозиготність (H_e) перевищує фактичну (H_o), що свідчить про зниження гетерозиготності у стаді корів цієї породи. У групах корів монбельярдської породи і помісей ситуація протилежна: фактична гетерозиготність перевищує очікувану і індекс фіксації має від'ємне значення.

Аналіз молочної продуктивності корів трьох досліджених груп виявив одну і ту ж тенденцію: корови з генотипом АА переважали ровесниць з генотипами АА і АВ. Найвищий надій за 305 днів першої лактації виявлено у помісних корів УЧеРМ×М з генотипом АА (6728 кг) (табл. 2). Різниця з надоєм їхніх ровесниць-помісей з генотипами ВВ і АВ склала 311 кг (5%) і 195 кг (3%) відповідно.

Найнижчий надій серед досліджених тварин виявлено у первісток УЧеРМ з генотипом АВ (6293 кг). У корів УЧеРМ з гомозиготними генотипами АА і ВВ відзначили вищі показниками надою — на 385 і 377 кг відповідно з вірогідною різницею ($P < 0,001$).

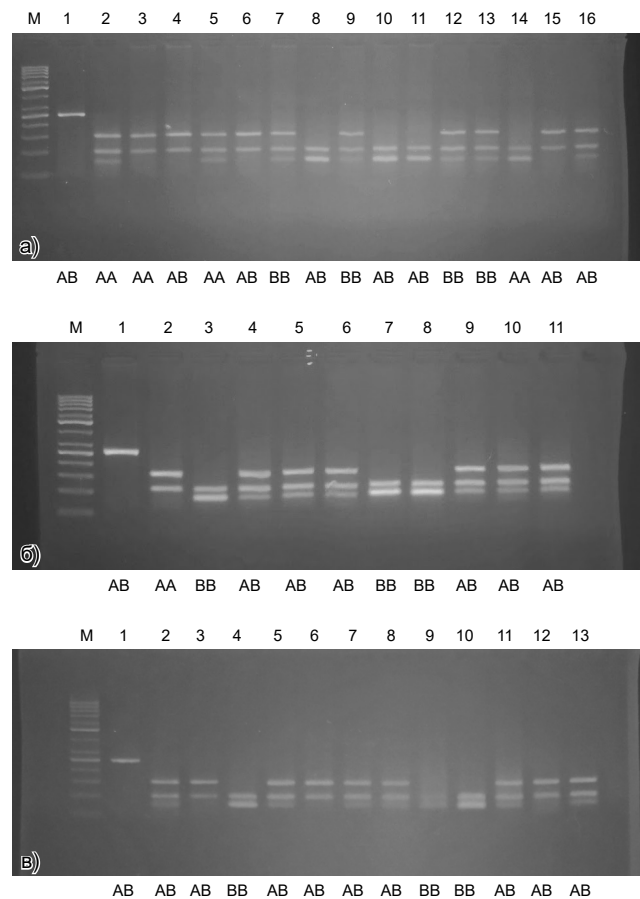


Рис. 1. Електрофореграма продуктів рестрикції гену бета-лактоглобуліну у тварин монбельярдської (а), української червоно-рябої молочної порід (б) та помісей української червоно-рябої молочної породи із монбельярдською (в)

Fig. 1. Electrophoregram of restriction products of beta-lactoglobulin gene in animals of Montbeliarde (a), Ukrainian Red-Spotted dairy breeds (б) and crossbreeds of Ukrainian Red-Spotted dairy breed with Montbeliarde (в)

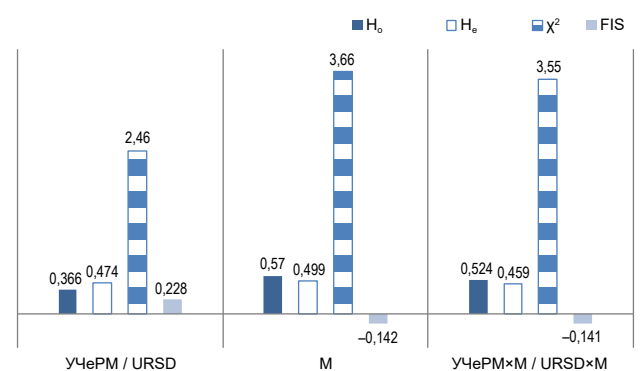


Рис. 2. Показники гетерозиготності у досліджених груп тварин за геном бета-лактоглобуліну
Fig. 2. Parameters of heterozygosity in the studied groups of animals by the beta-lactoglobulin gene

Примітка. H_o — експериментальна (фактична) гетерозиготність; H_e — очікувана гетерозиготність; Fis — фіксаційний індекс, χ^2 — критерій хі-квадрат.
Note. H_o — experimental (actual) heterozygosity; H_e — expected heterozygosity; Fis — fixation index, χ^2 — chi-square criterion.

Таблиця 2. Молочна продуктивність корів-первісток
Table 2. Dairy productivity of first-born cows

Показники Parameters	Генотипи Genotypes	Порода / Breed		
		УЧеРМ / URSD (n=30)	М (n=30)	УЧеРМ×М / URSD×М (n=23)
Надій за 305 днів, кг Milk yield for 305 days, kg	AA	6678±56	6644±98	6728±102
	AB	6293±57	6487±89	6417±99
	BB	6670±60	6345±127	6533±111
Вміст жиру, % Fat content, %	AA	3,75±0,050	4,40±0,030	4,50±0,040
	AB	3,76±0,030	3,90±0,020	4,15±0,050
	BB	3,73±0,030	4,10±0,050	4,00±0,030
Вміст білка, % Protein content, %	AA	3,40±0,070	3,30±0,030	3,40±0,050
	AB	3,37±0,039	3,45±0,020	3,34±0,600
	BB	3,16±0,063	3,38±0,050	3,89±0,050

В описі особливостей генетичної структури корів української червоно-рябої молочної породи [10] наведено дані досліджень щодо вищого рівню надою у корів з генотипом AA — 5523 кг проти 5021 кг у корів з генотипом BB і 5046 з генотипом AB у стаді ДП ДГ «Христинівське» Інституту розведення і генетики тварин НААН, як і в наших дослідженнях. Про вищі надої і жирномолочність у корів з генотипом BB білоруської чорно-рябої породи порівняно з тваринами із генотипами AA і AB повідомляють білоруські вчені [4].

Найвищі показники вмісту жиру виявлені у молоці особин УЧеРМ×М з генотипом AA, що на 0,1% і 0,75% вище, ніж у первісток з генотипом AA монбельярдської і української червоно-рябої молочної порід відповідно. Серед корів з генотипом AB досліджених груп найвища масова частка жиру виявлена у помісей (4,15%). Серед особин з генотипом BB масова частка жиру була вищою у первісток монбельярдської породи, що лише на 0,1% ($P<0,05$) переважала аналогічний показник у помісей. Різниця вмісту жиру в молоці корів УЧеРМ з ровесницями М і УЧеРМ×М суттєвіша — 0,37% і 0,27% ($P<0,001$) відповідно.

Найвищі показники вмісту жиру виявлені у молоці особин УЧеРМ×М з генотипом AA, що на 0,1% і 0,75% вище ($P<0,001$), ніж у первісток з генотипом AA монбельярдської і української червоно-рябої молочної порід відповідно. Серед корів з генотипом AB досліджених груп найвищу масову частку жиру виявлено в помісей (4,15%). Серед особин з генотипом BB масова частка жиру була вищою в первісток монбельярдської породи, що лише на 0,1% переважало аналогічний показник у ровесниць помісей. Різниця вмісту жиру в молоці корів УЧеРМ з ровесницями М і УЧеРМ×М суттєвіша — 0,37% і 0,27% ($P<0,01$) відповідно.

Масова частка білка виявилась найвищою у помісних первісток з генотипом BB — 3,89%, що на 0,51% переважало цей показник у М ($P<0,001$) і на 0,43% — в УЧеРМ ($P<0,001$).

Найнижче значення вмісту білка в молоці (3,16) було теж у носіїв генотипу BB в УЧеРМ. Різниця між найвищим і найнижчим значеннями цієї ознаки склала 0,73% ($P<0,05$).

Висновки

Досліджені групи великої рогатої худоби порід української червоно-рябої молочної і монбельярдської порід та міжпородних помісей української червоно-рябої молочної з монбельярдською характеризуються поліморфізмом за локусами гена бета-лактоглобуліну. В усіх групах корів-первісток переважає алель В, який відповідає за вміст білків і є бажаним за технологічними властивостями.

Вищий рівень надою характерний для корів з генотипом AA, а наявність у генотипі алеля В у гомозиготній чи гетерозиготній формі позитивно впливає на рівень білка в молоці.

Результати молекулярно-генетичного аналізу досліджених порід відображають специфічність генетичної структури за окремими локусами кількісних ознак, зокрема за геном бета-лактоглобуліну, що дає підстави використати цю закономірність для удосконалення селекційної роботи з породами молочної худоби.

Перспективи подальших досліджень

Плануємо дослідити рівень асоціативного зв'язку кількісних і якісних показників продуктивності молочної худоби різних порід із іншими генами кількісних ознак, зокрема з генами гормону росту, капа-казеїну тощо.

1. Botaro BG, Lima YVR, Aquino AA, Fernandes RHR, Garcia JF, Santos MV. Effect of beta-lactoglobulin polymorphism and seasonality on bovine milk composition. *J. Dairy Res.* 2008; 75 (2): 176–181. DOI: 10.1017/S0022029908003269.

2. Dubin OV, Dyman TM. Genetic structure of herd of Ukrainian Black and White dairy breed of Ltd. "Agrosvit" on QTL-genes. *Anim. Husb. Prod. Product. Proc.* 2013; 9 (103): 5–8. Available at: http://rep.btsau.edu.ua/bitstream/BNAU/2814/1/Henetychna_struktura.pdf (in Ukrainian)
3. Dybus A, Grzesiak W, Kamieniecki H, Szatkowska I, Sobek Z, Błaszczak P, Czerniawska-Piątkowska E, Zych S, Muszyńska M. Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black-and-White and Jersey cattle. *Arch. Anim. Breed.* 2005; 48: 149–156. DOI: 10.5194/aab-48-149-2005.
4. Epishko OA, Peshko VV, Peshko NN. Association of polymorphism of the beta-lactoglobulin gene from milk production of cows of the Belarusian black-motley breed. *Anim. Breed. Genet.* 2017; 53: 215–221. DOI: 10.31073/abg.53.29. (in Russian)
5. Farrell HM, Jimenez-Flores R, Bleck GT, Brown EM, Butler JE, Creamer LK, Hicks CL, Hollar CM, Ng-Kwai-Hang KF, Swaisgood HE. Nomenclature of the proteins of cows' milk — sixth revision. *J. Dairy Sci.* 2004; 87 (6):1641–1674. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73319-6.
6. Grădinaru A, Ilie D, Creangă Ș. Milk protein genetic variants in Romanian Spotted, Holstein Friesian and Montbéliarde cows and some correlations with milk parameters. *Res. J. Biotechnol.* 2013; 8 (11): 3–9.
7. Gudkov AV. *Cheese making: technological, biological and physico-chemical aspects.* Moscow, DeLi print, 2004: 804 p. ISBN 5-94343-071-7. (in Russian)
8. Karimi K, Beigi Nassiri MT, Fayyazi J, Mirzadeh KH, Roushanfekr H. Allele and genotype frequencies of β -lactoglobulin gene in Iranian Najdi cattle and buffalo populations using PCR-RFLP. *Afr. J. Biotechnol.* 2009; 8 (15): 3654–3657. Available at: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/61868>
9. Karimi K, Beigi Nassiri MT, Mirzadeh K, Ashayerizadeh A, Roushanfekr H, Fayyazi J. Polymorphism of the β -Lactoglobulin gene and its association with milk production traits in Iranian Najdi cattle. *Iran. J. Biotechnol.* 2009; 7 (2): 82–85. Available at: http://www.ijbiotech.com/article_7082.html
10. Kopylov KV, Biryukova OD, Berezovsky OV, Basovsky DM. Genetic monitoring in the herd of Ukrainian Red-Spotted dairy breed by gene complex. *Anim. Husb. Prod. Product. Proc.* 2005; 1: 28–31. (in Ukrainian)
11. Pareek CS, Czarnik U, Zabolewicz T, Pareek RS, Walawski K. DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide polymorphism in Polish Black-and-White cattle. *J. Appl. Genet.* 2005; 46(1): 85–87. PMID: 15741668.
12. Patel RK, Chauhan JB, Singh KM, Soni KJ. Genotype and allele frequencies of κ -casein and β -lactoglobulin in Indian river buffalo bulls (*Bubalus bubalis*). *Buff. Bull.* 2007; 26 (3): 63–66. Available at: https://kukr.lib.ku.ac.th/journal/BufalloBulletin/search_detail/result/286151
13. Podoba YV, Jachuk TS, Dobryanska ML, Berezovsky OV, Dzhus PP, Kopylov KV, Kopylova KV, Sydorenko OV. Research of the Polish Red breed cattle by genes kappa-casein (CSN3) and beta-lactoglobulin (BLG). *Fact. Exp. Evolut. Organisms.* 2013; 13: 234–236. Available at: <http://www.utgis.org.ua/journals/index.php/Faktery/article/view/167> (in Ukrainian)
14. Pogorelskiy IA, Pozovnikova MV. Polymorphism of β -lactoglobulin gene in black and white cattle population and the effect of β -lactoglobulin gene on cow's milk productivity indicators. *Genet. Anim. Breed.* 2014; 1: 45–48. Available at: <http://vniigen.ru/wp-content/uploads/2017/06/11.1.2014.pdf> (in Russian)
15. Strzalkowska N, Krzyzewski J, Zwierzchowski L, Ryniewicz Z. Effect of kappa-casein and beta-lactoglobulin poly morphism cows age, stage of lactation and somatic cell count on daily milk yield and milk composition in Polish Black and white cattle. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2002; 20: 21–35.
16. Tsiaras AM, Bargouli GG, Banos G, Boscós CM. Effect of κ -casein and β -lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 2005; 88 (1): 327–334. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72692-8.
17. Zepeda-Batista JL, Alarcón-Zúñiga B, Ruiz-Flores A, Núñez-Domínguez R, Ramírez-Valverde R. Polymorphism of three milk protein genes in Mexican Jersey cattle. *Electr. J. Biotechnol.* 2015; 18 (1): 1–4. DOI: 10.1016/j.ejbt.2014.10.002.
18. Zinovieva NA, Gladyr EA, Kostyunina OV. DNA diagnostics of polymorphism of genes of milk proteins in cattle. *Res. Method. Biotechnol. Farm Anim. VIZH*, 2004: 7–22. (in Russian)

Beta-lactoglobulin (BLG) gene polymorphism in Ukrainian and foreign cows

I. Mitioglo

ilia.mitioglo77@gmail.com

Institute of Animal Breeding and Genetics named after M. V. Zubets NAAS,
1 Pohrebniaka str, Chubynske village, Boryspil district, Kyiv region, 08321 Ukraine

The aim of the study was to study the polymorphism of the beta-lactoglobulin gene in cows of Ukrainian Red-Spotted dairy cattle and Montbéliarde breeds and animals obtained by crossing the local Ukrainian Red-Spotted dairy cattle with bulls of Montbéliarde breed and its relationship with milk productivity. Blood samples were taken from the cows Ukrainian Red-Spotted dairy cattle and crossbreeds (SE DG "Niva" of the Institute of Animal Breeding and Genetics named after M. V. Zubets) and from cows of Montbéliarde breed (PSP "Zhadkivske", Chernihiv region). with the end of the first lactation. To study the single nucleotide polymorphism of the beta-lactoglobulin (BLG) gene, the PCR-RFLP method with specific primers and restrictases was used. Dairy productivity of cows was determined by control milkings. Statistical processing of the obtained research results was carried out by the methods of biological statistics using the computer program *Microsoft Excel*. In our groups of cows, we have found three variants of genotypes at the locus of the beta-lactoglobulin gene — homozygous AA and BB and heterozygous AB. In the firstborns of the Montbéliarde breed and crossbreeds of the Ukrainian Red-Spotted dairy cattle with the Montbéliarde bulls, animals with the AB genotype were most common (0.57 and 0.524), in the group of the Ukrainian Red-Spotted dairy cattle — homozygous carriers of the BB genotype with a frequency of 0.433. In individuals of the Ukrainian Red-Spotted dairy breed, the expected heterozygosity (H_e) exceeds the actual (H_o), which indicates a decrease in heterozygosity in the herd of cows of this breed. In groups of Montbéliarde cows and crossbreeds, the situation is opposite: the actual heterozygosity exceeds the expected one and the fixation index is negative. Analysis of milk productivity of cows of the three studied groups revealed the same trend: cows with the AA genotype for the beta-lactoglobulin gene were dominated by peers with the AA and AB genotypes. The highest hopes for 305 days of the first lactation were found in crossbred cows with genotype AA (6728 kg). The difference in milk yield in crossbreeds with genotypes BB and AB was 311 (5%) and 195 (3%) kg, respectively. The highest indicators of fat content were found in the milk of first-born crossbreeds with the AA genotype, which is 0.1% and 0.75% higher than in the first-born with the AA genotype of Montbéliarde and Ukrainian Red-Spotted dairy cattle, respectively. Among cows with genotype AB, the highest mass fraction of fat was found in crossbreeds — 4.15%. The mass fraction of protein is highest in first-borns with the BB genotype — 3.89%, which was 0.51 higher than in Montbéliarde cows and 0.43% in the Ukrainian Red-Spotted dairy cattle. Thus, the results of molecular genetic analysis of the studied breeds reflect the specificity of the genetic structure at individual loci of quantitative traits, in particular the beta-lactoglobulin gene, which gives grounds to use this pattern to improve breeding work with dairy breeds.

Key words: Ukrainian Red-Spotted dairy cattle, Montbéliarde breed, crossbreeds, beta-lactoglobulin gene, genotypes, alleles, milk productivity



Вплив температури зимівлі на стан антиоксидантої системи *Apis mellifera* L.

В. В. Караван, Д. Ю. Качмарик, В. Ф. Череватов, Л. С. Язловицька

l.yazlovitska@chnu.edu.ua

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна

Досліджено стан антиоксидантної системи захисту медоносних бджіл *Apis mellifera carnica* за дії різних температур для оптимізації температурного режиму утримання бджолиних колоній у приміщенні під час зимівлі. Колонії бджіл (вік особин — 81–91 день) переносили з території пасіки Чернівецького національного університету у період різких перепадів температури (кінець листопада) у сталі температурні умови приміщень $5\pm 0,6^\circ\text{C}$ та $14\pm 0,8^\circ\text{C}$ й утримували їх там протягом 12 тижнів. Робочих бджіл для біохімічного аналізу відбирали кожні два тижні 7 разів. Вивчено вміст ТБК-активних продуктів (ТБКАП), активність каталази (CAT) та глутатіон-S-трансферази (GST) у тагмах комах (голова, груди та черевце). Встановлено, що переведення бджолиних колоній з нестабільних температурних умов на сталі, незалежно від їхньої величини, призводить до зменшення інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (рівня ТБКАП) на тлі зростання активності ензимів (CAT та GST). Виявлена тагмоспецифічна відповідь антиоксидантної системи організму бджіл залежно від температури зимівлі. Утримання бджолосімей у приміщенні за сталих температур впродовж 10 тижнів супроводжувалось взаємозгодженістю в роботі антиоксидантної системи організму комах: вміст ТБКАП, як і активність ензимів, залишались на сталому рівні впродовж досліджу. Проте на початку лютого (наприкінці досліджу), незалежно від температури в приміщенні, у тканинах голови бджіл зростав вміст ТБКАП, а в тканинах черевця посилювалась активність GST. Водночас в середині зими (січень) рівень ТБКАП у бджіл, які утримувались за $t = +5^\circ\text{C}$, був меншим порівняно з бджолами, які зимували за $t = +14^\circ\text{C}$. Запропоновано оптимальний температурний режим утримання колоній бджіл в умовах зимівлі у закритих приміщеннях: для бджолиних колоній середньої сили — за температури близько $+5^\circ\text{C}$, а бджолиних колоній слабкої сили та нуклеусів — за температури близько $+14^\circ\text{C}$ до кінця січня з подальшим зниженням температури до $+10^\circ\text{C}$.

Ключові слова: *Apis mellifera*, зимівник, температура, каталаза, глутатіон-S-трансфераза, ТБК-активні продукти

Бджола медоносна (*Apis mellifera* L.) поширена на значній території Земної кулі. Вважається, що цей вид вперше виник у Південно-Східній Азії й пізніше розповсюдився в Африку та Європу [29, 38]. Опанування такого широкого ареалу *Apis mellifera* стало можливим завдяки комплексу фізіологічних і поведінкових пристосувань до локальних екологічних умов [14, 22, 41].

Температура є одним з найважливіших абіотичних параметрів у житті тварин [17]: вона впливає майже на всі фізіологічні і біохімічні процеси та визначає поведінку комах [1, 36]. Під час холодної пори року медоносні бджоли, на відміну від більшості видів поодиноких комах, не впадають в діапазу, а збираються в зимові кластери для зменшення втрат тепла

колонією [28, 31, 32]. До адаптацій, які допомагають бджолі пережити зиму, належать: мінімізація енерговитрат [33], передзимові зміни фізіологічного стану в організмі бджіл, що контролюється біохімічними процесами [10, 21, 23, 39]. В Україні зима характеризується різкими перепадами температури, тривалими відлигами й сильними вітрами. Це негативно впливає на бджіл і призводить до зниження їхнього імунітету та зростання смертності в колоніях навесні [11, 12]. У холодному кліматі пасивна зимівля може тривати до 4–6 міс., що є значною частиною життєвого циклу бджолиних сімей. Для забезпечення зимівлі бджіл дедалі частіше використовують спеціалізовані приміщення (зимівники) з контрольованими показниками

температури, вологості тощо [19, 20, 28, 35, 36, 45]. Вдосконалення технологій бджільництва спрямовується на покращення умов пасивного періоду життєвого циклу бджолосімей для зменшення втрат [10, 37]. Проте біохімічні механізми адаптації комах до впливу температур протягом зимівлі вивчені недостатньо.

У всіх організмів процеси життєдіяльності супроводжуються утворенням в клітинах активних форм кисню (АФК). За дії стресових факторів зовнішнього середовища рівень АФК зростає [24]. Підвищений рівень АФК в клітинах призводить до пошкодження мембрани клітин і до активації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). У результаті реакцій ПОЛ утворюються тіобарбітурат-активні продукти (ТБКАП), які є маркерами оксидативного стресу у тканинах та органах [13, 15]. Захист організму комах від руйнівної дії АФК забезпечується ензимами антиоксидантної системи (АОС). Серед ензимів, які знешкоджують АФК, — каталаза (КАТ) [8] та глутатіон-S-трансфераза (GST) [26, 42]. Активність цих ензимів є індикатором загального стану антиоксидантної системи комах [5]. Відповідно, зміни фізіологічного стану бджіл за дії різних температурних умов зимівлі можуть бути оцінені визначенням активності стрес-асоційованих КАТ та GST у період адаптації медоносних бджіл до температурних умов зимівлі.

У зв'язку із вищезазначеним, дослідження стану АОС бджіл за дії різних температурних умов дозволить розробити практичні рекомендації для пасічників щодо температурного режиму утримання бджіл під час зимівлі. Метою роботи було оцінювання процесів ПОЛ, активності каталази, глутатіон-S-трансферази у робочих бджіл *Apis mellifera* за різних температурних умов зимівлі.

Матеріали та методи

Дослідження провели на місцевій популяції медоносних бджіл *Apis mellifera carnica* з пасіки Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича у пасивний період зимівлі (листопад-лютий). Для досліду було відібрано 8 здорових бджолосімей без клінічних ознак інфекційних захворювань, однакових за своєю силою — близько 14 000 бджіл у кожній колонії. Колонії розділили на дві експериментальні групи по 4 бджолосім'ї. Відбір бджіл здійснювали сім разів по 150 бджіл з вулика з кінця листопада до середини лютого. Перший відбір (1) бджіл 81–91-денного віку проводили безпосередньо перед перенесенням бджолосімей з несталих низьких температур на вулиці в умови сталої температури у приміщенні. У кожному вулику для контролю температури всередині було встановлено по три електронні термометри LCD (L431). Після цього 4 вулики було перенесено у зимівник зі сталою температурою $5 \pm 0,6^\circ\text{C}$ (температура всередині вуликів — $9,0 \pm 0,6^\circ\text{C}$), а інші чотири вулики — у приміщення з температурою $14 \pm 0,8^\circ\text{C}$ (температура всередині вуликів — $15,1 \pm 1,3^\circ\text{C}$).

Робочих бджіл відбирали з рамок один раз на два тижні, заморожували рідким азотом і зберігали до проведення біохімічних аналізів за -70°C . Вік комах при другому відборі (2) становив 95–105 днів, при третьому (3) — 109–119 днів, при четвертому (4) — 123–133 дні, при п'ятому (5) — 137–147 днів, при шостому (6) — 151–161 день і при сьомому (7) — 165–175 днів.

Біохімічні показники оцінювали для кожної тагми окремо. Для цього заморожених бджіл препарували на холоді. Відділені частини тіла — голова, груди, черевце (по 10 тагм на пробу) розтирали із застосуванням швидкісного гомогенізатора *Heidolph* у 1000 мкл холодного буферу, склад якого залежав від досліджуваного біохімічного показника. Активність каталази визначали за методом Аєбі з певними модифікаціями [2, 43], активність глутатіон-S-трансферази — за методом Пасквела з певними модифікаціями [9, 18]. Для визначення рівня ТБКАП тагми бджіл (по 10 на пробу) зважували та гомогенізували в 1000 мкл холодного RIPA-буферу, який містив 50 мМ М Tris HCl (pH 7,4), 150 мМ NaCl, 1% Triton X-100, 0,5% дезоксихолат натрію, 0,1% SDS, 2 мМ мМ EDTA, 50 мМ мМ NaF. Проби центрифугували при 12000 g, 10 хв при 5°C ; 800 мкл супернатанту доводили до 1000 мкл RIPA буфером та додавали 1000 мкл 0,5% тіобарбітурової кислоти, розчиненої у 20% ТХО. Проби перемішували, кип'ятили на водяній бані протягом 60 хв. Надалі дослідний матеріал охолоджували 10 хв. на льоду. Центрифугували 10 хв. при 12000 g, відбирали супернатант та проводили вимірювання оптичної густини при довжині хвилі 532 нм та 600 нм [27]. Визначення кількості протеїну в екстракті проводили за методом Бредфорда [6].

Отримані результати проаналізовано за критеріями Вілкоксона, Манна-Уїтні та Краскела-Уолеса. Опис вибіркового розподілу даних проведено на основні значень медіани (Me), нижнього (25%) та верхнього (75%) квартилей. Критичний рівень вірогідності за перевірки статистичних гіпотез був рівним $P \leq 0,05$.

Результати й обговорення

На першому етапі дослідження з'ясовано вплив процесів стабілізації температурних умов довколишнього середовища на антиоксидантну систему захисту комах. Для цього бджолині колонії (вік особин — 81–91 день) переносили з території пасіки у період різких перепадів температури та вологості (кінець листопада) в сталі умови зимівників з $t = 5 \pm 0,6^\circ\text{C}$ і $t = 14 \pm 0,8^\circ\text{C}$. За два тижні бджіл відбирали для проведення біохімічних досліджень.

У Західному регіоні України в 2019 р. наприкінці листопада — на початку грудня температура повітря коливалась вночі від -7°C до $+14^\circ\text{C}$, а вдень — від 0°C до $+18^\circ\text{C}$ [40]. Проте відомо, що комфортним для зимівлі бджіл є температурний діапазон від $+3^\circ\text{C}$ до $+8^\circ\text{C}$, а за температур поза цими межами суттєво зростає

споживання бджолами кормів [44]. Водночас виявлено, що температура всередині зимового кластера бджіл, залежно від фізіологічного стану колонії, коливається в межах від 20°C до 35°C [33]. Отже, суттєві перепади температур в нашому регіоні змінюють поведінку бджіл в колоніях під час зимівлі, що відображається на фізіологічному стані бджіл після виходу із зимівлі [11, 12]. Це обумовило вивчення біохімічних особливостей пристосування бджіл до температурного стресу під час зимівлі саме за таких експериментальних сталих температур в приміщеннях: 14±0,8°C та 5±0,6°C.

Встановлено різноспрямовані зміни досліджуваних нами параметрів оксидативного стресу (рівня ТБКАП, активності ензимів) в результаті адаптації бджіл до певного температурного режиму в приміщенні.

У бджіл, взятих для дослідження з вуликів, які помістили в приміщення за сталої температури +5°C, спостерігалось зменшення рівня ТБКАП у тканинах черевця ($P < 0,0277$) та зростання у тканинах голови ($P < 0,0431$) порівняно з показниками у бджіл до перенесення в приміщення (рис. 1А, 1С). Переміщення вуликів до зимівника з $t = +14^\circ\text{C}$ провокувало зменшення рівня ТБКАП у тканинах голови ($P < 0,0277$) і грудей ($P < 0,0277$) та його зростання у тканинах черевця ($P < 0,0277$) (рис. 1). Варто зазначити, що після двох тижнів адаптації до експериментального температурного режиму в приміщенні цей показник у тканинах черевця у бджіл зимівника з $t = +14^\circ\text{C}$ був вищим, ніж за $t = +5^\circ\text{C}$ ($P < 0,0021$) (рис. 1С), тоді як у тканинах голови та грудей вміст ТБКАП не залежав від температури у приміщенні (рис. 1А, 1В).

Нами виявлено тагмоспецифічні зміни активності антиоксидантних ензимів залежно від температури утримання бджолиних колоній. Зокрема, перенесення бджолосімей з пасіки до приміщення з $t = +5^\circ\text{C}$ призводило до зменшення активності каталази тільки у тканинах голови ($P < 0,028$). У бджіл, яких перенесли в приміщення з $t = +14^\circ\text{C}$, активність САТ не змінювалась у тканинах голови, проте зменшувалась у тканинах черевця ($P < 0,0077$) та зростала в тканинах грудей ($P < 0,0464$) у комах 2-го відбору порівняно з 1-м (рис. 2). Перенесення вуликів до зимівника та їх утримання за $t = +14^\circ\text{C}$ призводило до зростання активності GST у тканинах голови ($P < 0,018$), зменшення у тканинах черевця ($P < 0,0277$) та незначних коливань у тканинах грудей комах (рис. 3). Перенесення вуликів до зимівника з $t = +5^\circ\text{C}$ не спричиняло суттєвих змін за цим параметром у тканинах голови та черевця, проте спостерігали зростання активності GST у тканинах грудей бджіл ($P < 0,018$) (рис. 3).

Одним із пояснень виявленої нами тагмоспецифічної реакції-відповіді організму бджіл на дію абіотичних стресових факторів за величиною рівня ТБКАП, активностей САТ та GST є особливості окисно-відновного стану клітин і диференціальної експресії генів, які регулюють АФК. В основі цих відмінностей є різні функції основних тканин у цих частинах тіла — головного мозку, посмугованих м'язів грудей, кишеч-

нику та жирового тіла черевця відповідно. Встановлено, що окисні параметри і диференціальна експресія генів, пов'язаних з цими процесами, демонструє тагмоспецифічні зміни [7].

Абсолютні значення досліджуваних біохімічних параметрів суттєво не відрізнялись у бджіл за різних температурних режимів зимівлі (рис. 1–3). В умовах досліду за температури в приміщенні +5°C температура у вулику становила +9,0°C. Відомо, що за такої температури бджоли утворюють «клуб» — бджолиний кластер з метою мінімізації енерговитрат [28, 31]. Температура тіла бджіл у кластері зазвичай вища від температури навколишнього середовища [32, 33]. Отже, при утриманні колоній за температури в зимівнику +5°C, температура тіла взятих для експерименту бджіл підтримувалась значно вищою за зовнішню температуру, що і вплинуло на рівень метаболізму комах. Температура досліджуваних бджіл відрізнялась в середньому на декілька градусів незалежно від температурних умов в приміщенні. Це може бути одним із факторів, який зумовив відсутність значних відмінностей за абсолютними значеннями досліджуваних параметрів протягом експерименту. Різні значення досліджуваних параметрів у окремих тагмах комах можуть бути зумовлені також і різною температурою цих частин, як встановлено в роботі [32].

Сталість температур протягом пасивного періоду зимівлі, на відміну від її різних коливань, позитивно впливає на життєдіяльність комах. Зокрема, переведення бджіл в умови експериментальних температур зменшує стресове навантаження, спричинене різкими коливаннями температур, про що свідчить зменшення вмісту ТБКАП у тканинах голови за температури +14°C та зростання за температури +5°C, що відображає індикаційний характер цього параметра. Спостерігали посилення активності GST при утриманні бджіл за температури +14°C, проте зменшення активності САТ у бджіл за $t = +5^\circ\text{C}$ в зимівнику. Щодо тканин грудей, то перенесення бджіл на сталі температури призводило до зменшення вмісту ТБКАП за рахунок зростання активності САТ при утриманні колоній за температури +14°C. Водночас за $t = +5^\circ\text{C}$ в зимівнику виявлено тільки зростання активності GST. Це доцільно пояснити тим, що за низької температури у приміщенні бджоли повинні підтримувати оптимальну температуру в центрі зимового кластера за рахунок ендотермії, зокрема посилення скорочень (тремтіння) льотних м'язів грудей [32, 33]. Висока активність м'язів призводить до значного зростання АФК, які знешкоджуються ензимами АОС. У тканинах черевця бджіл стабілізація температури провокувала зменшення активності ензимів на тлі зростання вмісту ТБКАП при зимівлі колоній за $t = +14^\circ\text{C}$, тоді як за $t = +5^\circ\text{C}$ активність САТ та GST не змінювалась, проте вміст ТБКАП зменшувався. Зростання вмісту ТБКАП за $t = +14^\circ\text{C}$ може бути пов'язаним з кількістю їжі, яку бджоли споживали за сталих температур у зимівнику.

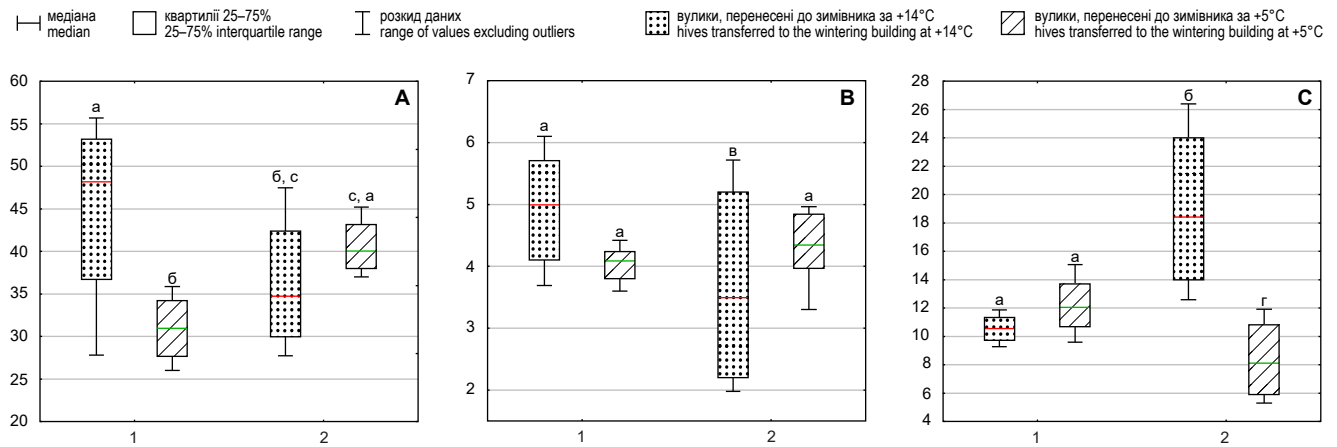


Рис. 1. Рівень ТБКАП ($\mu\text{M}/\text{г}$ т. с. м.) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній. Порядок відбору — вік бджіл: 1 — 81–91-денні бджоли, утримувані на території пасіки; 2 — 95–105-денні бджоли, утримувані в зимівниках
Fig. 1. The level of TBARS ($\mu\text{mol}/\text{g}$ of tissue) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies. Selection procedure — age of bees: 1 — 81–91-day-old bees held in the apiary; 2 — 95–105 day-old bees held in the wintering buildings
Примітка. Тут і далі статистично вірогідна різниця за $P < 0,05$ позначена різними літерами.
Note. Here and further a statistically significant difference ($P < 0.05$) is denoted by different letters.

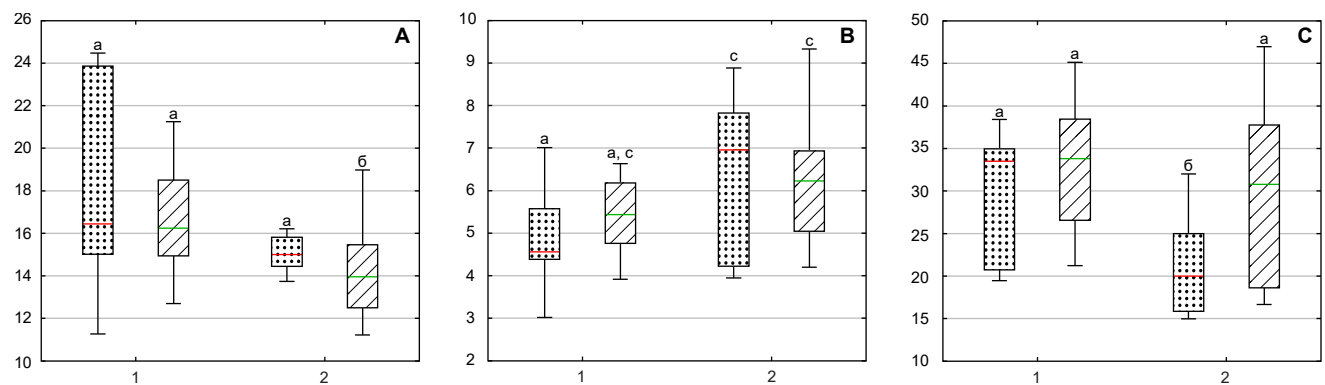


Рис. 2. Активність каталази (мкмоль/хв/мг протеїну) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній. Порядок відбору — вік бджіл: 1 — 81–91 денні бджоли, утримувані на території пасіки; 2 — 95–105 денні бджоли, утримувані в зимівниках
Fig. 2. Catalase activity ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies. Selection procedure — age of bees: 1 — 81–91-day-old bees held in the apiary; 2 — 95–105-day-old-bees held in the wintering buildings

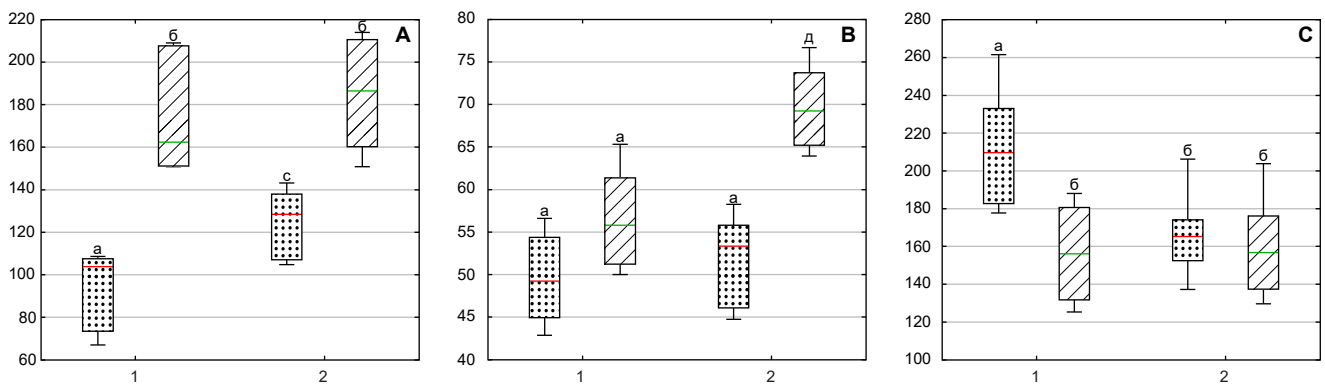


Рис. 3. Активність глутатіон-S-трансферази (мкмоль/хв/мг протеїну) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній. Порядок відбору — вік бджіл: 1 — 81–91-денні бджоли, утримувані на території пасіки; 2 — 95–105-денні бджоли, утримувані в зимівниках
Fig. 3. Glutathione-S-transferase activity ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies. Selection procedure — age of bees: 1 — 81–91-day-old bees held in the apiary; 2 — 95–105 day-old bees held in the wintering buildings

Отже, зміна температурних умов утримання бджолосімей з нестабільних на сталі, незалежно від їх величини ($14 \pm 0,8^\circ\text{C}$ та $5 \pm 0,6^\circ\text{C}$), призводить до позитивних змін, покращуючи адаптаційний потенціал комах. Стабілізація температури у приміщенні супроводжується зменшенням швидкості перебігу перекисного окислення ліпідів (рівня ТБКАП) на тлі зростання активності ензимів АОС (CAT та GST) у комах, особливо за температури $+14^\circ\text{C}$.

Ми провели моніторинг стану антиоксидантної системи у бджіл, яких утримували в приміщенні протягом десяти тижнів (початок грудня — початок лютого) за сталих температур $5 \pm 0,6^\circ\text{C}$ та $14 \pm 0,8^\circ\text{C}$. Відомо, що в зоні помірного клімату наприкінці зими бджолина колонія починає вирощувати розплід. Час появи розплоду колоніях під час зимівлі має вирішальне значення, а передчасна його поява може призвести до виснаження енергетичних запасів у колонії [30]. Виявлено, що поява розплоду наприкінці зими пов'язана з генетичними особливостями бджіл та визначається переважно температурою довколишнього середовища, яку модулює світловий період [25]. Щоб уникнути цього явища, на початку лютого експериментальну температуру у приміщенні було знижено з $+14^\circ\text{C}$ до $+10^\circ\text{C}$.

У тканинах голови бджіл за середніх температур у зимівнику в грудні виявлено зростання рівня ТБКАП при порівнянні третього відбору з другим ($P < 0,028$) (рис. 4А). Надалі величина ТБКАП залишалась на сталому рівні, проте до кінця експерименту, при порівнянні 7-го відбору з 6-м, — суттєво зростала ($P < 0,028$) (рис. 4А). За умов утримання колоній в приміщенні з температурою $+5^\circ\text{C}$ спостерігалось незначне коливання цього показника протягом 2-го, 3-го та 4-го відборів. В подальшому виявлено зменшення рівня ТБКАП у тканинах голови комах при порівнянні 5-го відбору з 2-м ($P < 0,029$), проте наприкінці дослідження спостерігали його значне зростання, про що свідчить порівняння 6-го з 5-тим ($P < 0,029$) та 7-го відбору з 6-тим ($P < 0,029$) (рис. 4А). У бджіл, які зимували в приміщенні з $t = +5^\circ\text{C}$, рівень ТБКАП в тканинах голови комах з кінця грудня до кінця січня (з 3-го по 5-й відбір) був меншим ($P < 0,029$), ніж у колоніях, яких утримували за $t = +14^\circ\text{C}$, і лише в лютому, наприкінці дослідження (6-й та 7-й відбори) він досягав величин, виявлених у бджіл, які зимували за $t = +14^\circ\text{C}$ (рис. 4А).

Одним із пояснень виявлених низьких та сталих значень вмісту ТБКАП у тканинах голови комах за умов стабільних показників мікроклімату в приміщенні є окремі функціональні зміни та перебудови в роботі антиоксидантної системи, що дозволяє бджолам адаптуватись до температурних умов зимівлі. Водночас збільшення рівня ТБКАП в лютому (наприкінці дослідження) може бути зумовлене віковими особливостями щодо формування механізмів захисту бджіл в умовах дії стресових факторів, зокрема температурних.

Дослідження рівня ТБКАП в тканинах грудей за-свідчує суттєве зростання цього показника у бджіл

з колоній, який утримували в приміщенні з $t = +14^\circ\text{C}$, в середині експерименту (рис. 4В). Порівняльний аналіз результатів визначення рівня ТБКАП у бджіл 5-го відбору з 4-м виявив збільшення ($P < 0,0022$) цього показника в тканинах грудей під час їх зимівлі за $t = +14^\circ\text{C}$ (рис. 4В). Наприкінці дослідження рівень ТБКАП зменшувався, що відображає порівняльний аналіз результатів 5-го відбору з 6-м ($P < 0,026$) та 5-го з 7-м ($P < 0,015$), і досяг рівня, який спостерігали на початку грудня під час 2-го відбору (рис. 4В). Утримання бджолосімей за $t = +5^\circ\text{C}$ провокувало окремі зміни досліджуваного показника протягом зимівлі: виявлено зменшення рівня ТБКАП на початку січня під час 4-го відбору порівняно кінцем дослідження, середина лютого, 7-й відбір ($P < 0,015$) (рис. 4В). У січні в середині дослідження рівень ТБКАП у бджіл, які зимували за $t = +5^\circ\text{C}$, був меншим, ніж у бджіл за $t = +14^\circ\text{C}$ ($P < 0,002$) (рис. 4В). Наприкінці дослідження в лютому рівень ТБКАП у бджіл за $t = +5^\circ\text{C}$ досягав абсолютних значень цього показника у бджіл, яких утримували у приміщенні з $t = +10^\circ\text{C}$ (рис. 4В).

Щодо тканин черевця, то у бджіл, які зимували за $t = +14^\circ\text{C}$, вміст ТБКАП зменшувався на 30% наприкінці грудня порівняно з початком місяця — 3-й відбір порівняно з 2-м ($P < 0,0022$) (рис. 4С). Надалі протягом січня він залишався на сталому рівні, в лютому — зменшувався, що відображає порівняльний аналіз показників 6-го відбору з 4-м ($P < 0,0087$) та 7-го з 4-м ($P < 0,025$) (рис. 4С). У бджіл, які зимували за температури $+5^\circ\text{C}$, рівень ТБКАП зростав протягом грудня, про що свідчить порівняння 2-го і 4-го ($P < 0,0022$), 3-го і 4-го відборів ($P < 0,065$) (рис. 4С). При цьому під час четвертого відбору на початку січня досліджуваний показник зріс на 40% порівняно з другим відбором на початку грудня і залишився на цьому рівні до кінця дослідження. Варто зазначити, що за абсолютними значеннями рівень ТБКАП в тагмах комах в січні-лютому не залежав від температурних умов зимівлі (рис. 4С).

Виявлена нами подібність змін рівня ТБКАП за різних температурних умов на двох останніх етапах експерименту може свідчити про те, що у бджіл відбулись адаптаційні зміни для подолання оксидативного стресу, індикаторами якого є рівень ТБКАП.

Зимівля бджіл за сталих температур протягом тривалого часу (10 тижнів) призводила до зростання активності САТ в тканинах голови робочих бджіл на початку зими — 2-й відбір порівняно з 3-м ($P < 0,031$) і надалі залишалась без суттєвих змін за $t = +14^\circ\text{C}$ (рис. 5А). Водночас за $t = +5^\circ\text{C}$ зростання активності ферменту відбувалось на місяць пізніше — 5-й відбір порівняно з 4-м ($P < 0,011$), ніж за $t = +14^\circ\text{C}$. При цьому абсолютні значення величин активності САТ суттєво не залежали від температур у приміщенні протягом усього дослідження, окрім останнього, 7-го відбору ($P < 0,024$) (рис. 5А). Активність ензиму в тканинах тораксу бджіл за сталої температури зимівлі колоній $+14^\circ\text{C}$ в другій половині січня зменшувалась у бджіл 6-го відбору порівняно з 5-м ($P < 0,021$), проте наприкінці дослідження в середині лютого — зростала, на що вказує проведення порів-

няльного аналізу досліджуваного показника у бджіл 165–175-денного та 151–161-денного віку ($P < 0,024$) (рис. 5B). Зимівля колоній за $t = +5^{\circ}\text{C}$ суттєво не змінила активності САТ у тканинах тораксу комах протягом зими. В аналогічний період часу, в середині календарної зими, виявлено тенденцію до зростання активності САТ і надалі — до її зменшення (рис. 5B). У бджіл, які зимували за $t = +14^{\circ}\text{C}$, активність САТ в тканинах тораксу була нижчою, ніж у комах, які зимували в приміщенні з $t = +5^{\circ}\text{C}$, у 3-, 4-, 5-, 6-, 7-му відборах ($P < 0,05$) (рис. 5B). Зростання активності САТ у тканинах грудей бджіл за низьких температур ($t = +5^{\circ}\text{C}$) доцільно пояснити фізіологічною необхідністю комах підтримувати оптимальну температуру в кластері зокрема за рахунок термогенезу м'язів грудей. Це викликає зростання рівня АФК, які мають знешкоджуватись за рахунок посилення активності ензимів АОС, зокрема каталази.

Утримання бджолиних колоній в приміщенні з $t = +14^{\circ}\text{C}$ в перший місяць зими призводило до зростання активності САТ в тканинах черевця комах — 2-й відбір порівняно з 3-м ($P < 0,0079$), 2-й відбір порівняно з 4-м ($P < 0,00004$), 3-й відбір порівняно з 4-м ($P < 0,0055$). Надалі активність САТ залишалась на такому ж рівні до кінця досліду (рис. 5C). Водночас за $t = +5^{\circ}\text{C}$ активність САТ в тканинах черевця бджіл суттєво не змінювалась протягом всього періоду експерименту (рис. 5C).

Щодо активності GST встановлено, що в тканинах голови, грудей та черевця бджіл, які зимували як за $t = +14^{\circ}\text{C}$, так і за $t = +5^{\circ}\text{C}$ в приміщенні, досліджуваний показник не зазнавав суттєвих змін протягом зими (рис. 6). В тканинах черевця наприкінці досліду в середині лютого спостерігалось зростання активності GST у робочих бджіл незалежно від конкретної температури у приміщенні — 6-й відбір порівно з 7-м ($P < 0,05$) (рис. 6C). Водночас активність досліджуваного ензиму в тканинах голови була нижчою у робочих бджіл з колоній, які зимували за $t = +14^{\circ}\text{C}$, порівняно з бджолами, утримуваними за $t = +5^{\circ}\text{C}$ — 2-й відбір ($P < 0,008$), 3-й відбір ($P < 0,0485$), 5-й відбір ($P < 0,004$), 6-й відбір ($P < 0,016$) (рис. 6A). У тканинах грудей бджіл активність ферменту не залежала від температури у зимівнику (рис. 6B).

Встановлено, що абсолютні значення досліджуваних біохімічних параметрів суттєво не відрізнялись у бджіл, утримуваних за різних температурних умов зимівлі (рис. 4–6). На нашу думку, це пов'язано з особливостями метаболізму бджолиної сім'ї, яка функціонує як єдиний організм, всі індивідууми колонії якої підпорядковані єдиній стратегії виживання у стресових умовах [22, 32]. Кожна бджола регулює свій метаболізм та поведінку відповідно до загальних потреб колонії за різних температурних умов середовища. Перенесення бджіл на холод призводить до зміни поведінки комах: вони утворюють «клуб» — бджолиний кластер для мінімізації енерговитрат [30, 33]. За умов різних перепадів температури бджоли формують тимчасові нещільні кластери, на відміну від кластерів за постійних низьких температур: якщо температура

перевищує $+13,5^{\circ}\text{C}$, колонія не збирається у кластер, а за температури нижче $+10,3^{\circ}\text{C}$ — утворює його [35]. Отже, за низьких температур бджоли щільно агрегують у зимовий кластер. Зовнішні бджоли такого кластера різко знижують теплові втрати та мінімізують ендотермію, що є вирішальним фактором для виживання комах за низьких температур [33]. Для визначення біохімічних параметрів в досліді ми використовували зовнішніх бджіл кластера.

Виявлена нами на цьому етапі експерименту подібність змін вмісту ТБКАП, активності САТ та GST за різних температурних умов відображає адаптаційні зміни щодо подолання оксидативного стресу, індикаторами якого є ці показники.

В останні терміни відбору бджіл ми спостерігали зростання активності GST у тканинах черевця комах в умовах зимівлі у приміщенні ($P < 0,05$) (рис. 6C). Однією з причин цього є підвищення рівня утворення АФК під час травлення в результаті застійних явищ, пов'язаних з накопиченням продуктів розпаду в кишечнику зимуючих бджіл. Мікрофлора кишечника комах і симбіотичні відносини між бджолами та бактеріями також можуть призводити до зміни рівня АФК у бджіл на різних етапах онтогенезу [3, 16].

Можна припустити, що виявлені нами відмінності в активності досліджуваних ензимів та вмісту ТБКАП пов'язані з віковими особливостями комах, які в нашому досліді мали вік від 81–91 дня (1-й відбір) до 165–175 днів (7-й відбір). Раніше було показано зростання експресії генів САТ у 6- та 12-тижневих зимових бджіл [4]. Але в нашому дослідженні бджоли були старшими за віком порівняно з тими, яких досліджували [4], тому ми подібної закономірності не виявили.

Отже, довготривала дія сталого стресового фактору призводить до змін на молекулярному рівні, що супроводжується певною взаємоузгодженістю в роботі захисних систем організму, в тому числі антиоксидантної. Наявність адаптивної відповіді у комах припускає можливість існування специфічних та довготривалих біохімічних захисних реакцій.

За результатами проведених експериментальних досліджень, ми рекомендуємо пасічникам-практикам проводити диференціацію сімей за силою і запасами кормів щодо забезпечення оптимальних умов зимівлі бджолиних колоній в умовах помірного клімату з різкими коливаннями температур та іншими екстремальними метеорологічними факторами. Колоніям слабкої сили та нуклеусам, на нашу думку, бажано створювати сталі умови зимівлі за температури близько $+14^{\circ}\text{C}$ в зимівнику до кінця січня з подальшим її зниженням до $+10^{\circ}\text{C}$. Колоніям середньої сили оптимально підтримувати нижчу температуру в зимівнику — близько $+5^{\circ}\text{C}$, що мінімізує зниження сили колоній у несприятливий пасивний період зимівлі. Запропонований температурний режим утримання *Apis mellifera* L. дозволить зменшити втрати колоній при виході з зимівлі та прискорить подальші темпи їх весняного розвитку, що водночас підвищить ефективність бджільництва.

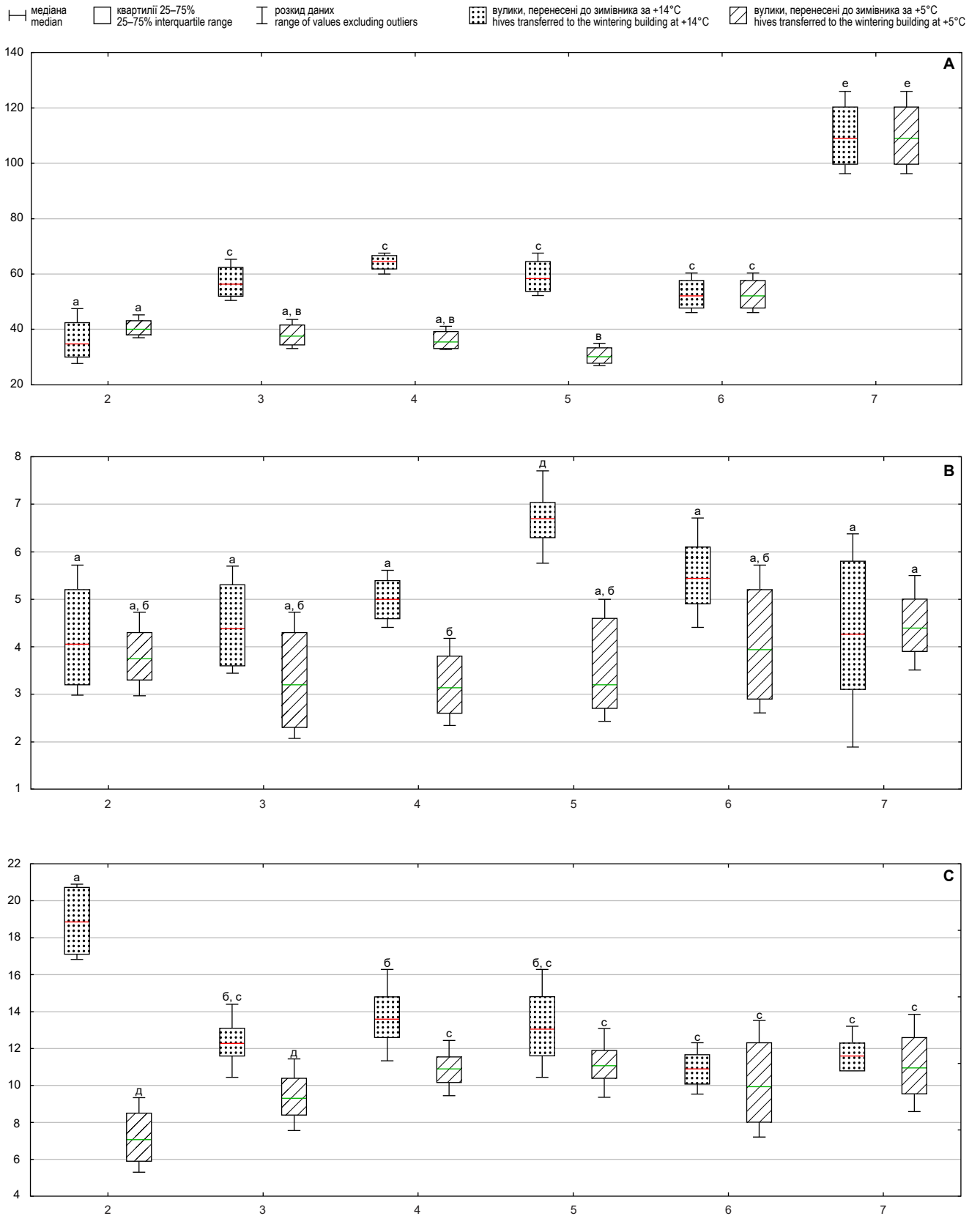


Рис. 4. Рівень ТБКАП ($\mu\text{M}/1$ г с. м.) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній. Порядок відбору — вік бджіл: 2 — 95–105-денні, 3 — 109–119-денні, 4 — 123–133-денні, 5 — 137–147-денні, 6 — 151–161-денні, 7 — 165–175-денні.

Fig. 4. The level of TBARS ($\mu\text{mol}/\text{g}$ of tissue) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies. Selection procedure — age of bees: 2 — 95–105-day-old bees, 3 — 109–119-day-old-bees, 4 — 123–133-day-old-bees, 5 — 137–147-day-old-bees, 6 — 151–161-day-old-bees, 7 — 165–175-day-old-bees.

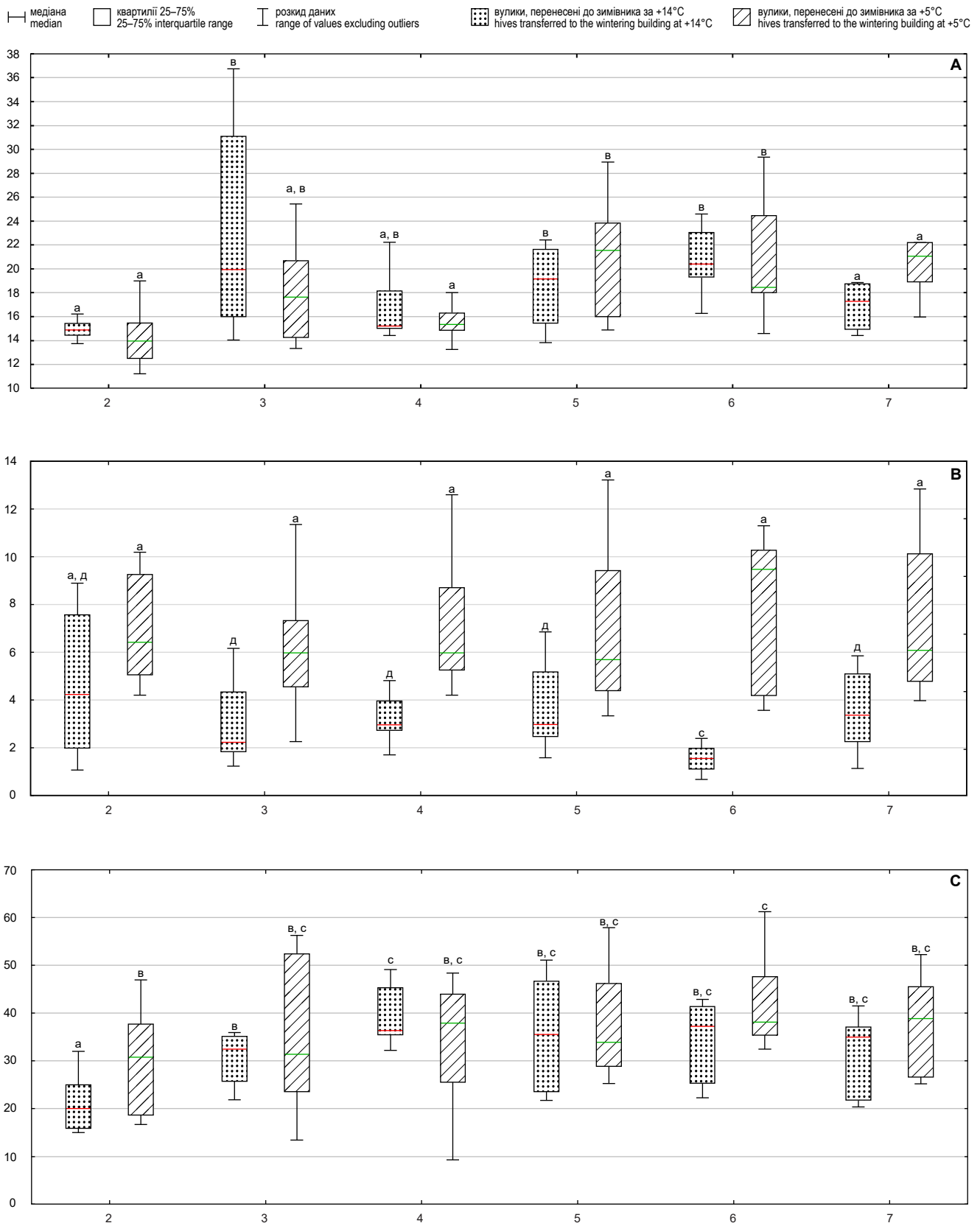


Рис. 5. Активність каталази (мкмоль/хв/мг протеїну) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* в за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній.

Порядок відбору — вік бджіл: 2 — 95–105-денні, 3 — 109–119-денні, 4 — 123–133-денні, 5 — 137–147-денні, 6 — 151–161-денні, 7 — 165–175-денні.

Fig. 5. Catalase activity (µmol/min/mg prot) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies.

Selection procedure — age of bees: 2 — 95–105-day-old bees, 3 — 109–119-day-old-bees, 4 — 123–133-day-old-bees, 5 — 137–147-day-old-bees, 6 — 151–161-day-old-bees, 7 — 165–175-day-old-bees.

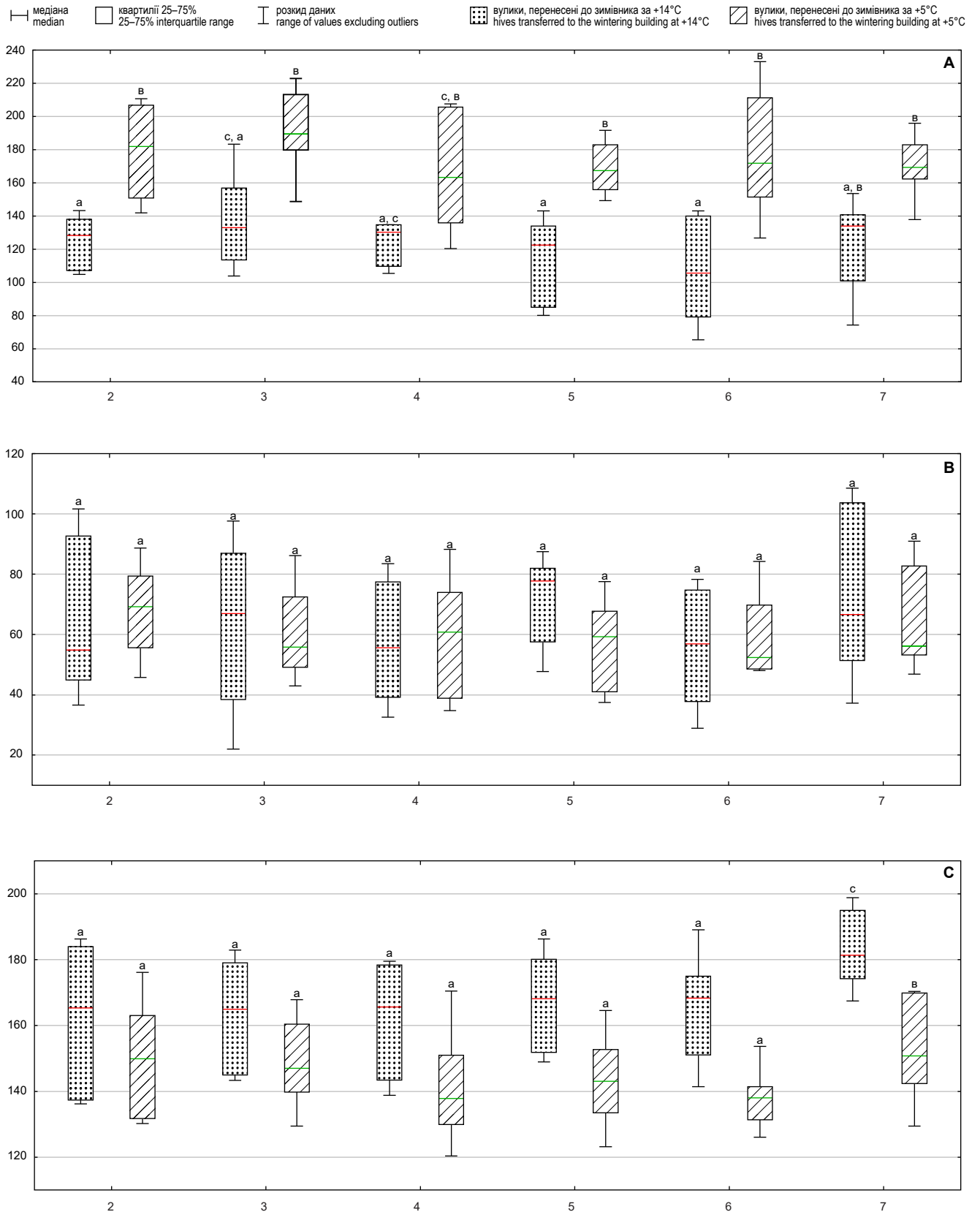


Рис. 6. Активність глутатіон-S-трансферази (µмоль/хв/мг протеїну) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній.

Порядок відбору — вік бджіл: 2 — 95–105-денні, 3 — 109–119-денні, 4 — 123–133-денні, 5 — 137–147-денні, 6 — 151–161-денні, 7 — 165–175-денні.

Fig. 6. Glutathione-S-transferase activity (µmol/min/mg prot) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies.

Selection procedure — age of bees: 2 — 95–105-day-old bees, 3 — 109–119-day-old bees, 4 — 123–133-day-old bees, 5 — 137–147-day-old bees, 6 — 151–161-day-old bees, 7 — 165–175-day-old bees.

Висновки

1. Встановлено, що переведення бджолиних колоній з нестабільних температурних умов на сталі, незалежно від рівня температури ($14 \pm 0,8^\circ\text{C}$ та $5 \pm 0,6^\circ\text{C}$), призводить до зменшення інтенсивності перекисного окислення ліпідів (рівня ТБКАП) на тлі зростання активності ензимів антиоксидантної системи (каталази та глутатіон-S-трансферази).

2. Виявлено тагмоспецифічну відповідь антиоксидантної системи захисту організму медоносних бджіл залежно від температури зимівлі.

3. Встановлено, що зимівля бджолиних колоній у приміщенні за сталих температур впродовж грудня-лютого супроводжується взаємоузгодженістю в роботі антиоксидантної системи робочих бджіл, що відображають константи значення вмісту ТБКАП та активності ензимів. Водночас наприкінці досліду, незалежно від температури в приміщенні, у тканинах голови бджіл вміст ТБКАП зростає, а в тканинах черевця підвищувалась активність GST, що виявляє посилення стресового навантаження.

4. Показано, що в середині зими (січень), рівень ТБКАП у тканинах усіх тагм бджіл, які утримувались за $t = 5^\circ\text{C}$, був меншим у порівнянні з утриманням бджіл за $t = 14^\circ\text{C}$. Проте, активність каталази в тканинах грудей бджіл, що зимували за $t = 5^\circ\text{C}$ була вищою, ніж у бджіл за $t = 14^\circ\text{C}$, що дозволяє бджолам підтримувати необхідний рівень фізіологічних процесів у пасивний період зимівлі.

Перспективи подальших досліджень

Дослідити в лабораторних умовах стан антиоксидантної системи невеликого кластеру бджіл (до 300 особин) за умов низькотемпературного стресу.

Автори висловлюють щире подяку професору Ірині Ігорівні Панчук за слушні зауваження та побажання, надані при обговоренні отриманих результатів.

1. Abou-Shaara HF, Owayss AA, Ibrahim YY, Basuny NK. A review of impacts of temperature and relative humidity on various activities of honey bees. *Insectes Sociaux*. 2017; 64 (4): 455–463. DOI: 10.1007/s00040-017-0573-8.
2. Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol*. 1984; 105: 121–126. DOI: 10.1016/S0076-6879(84)05016-3.
3. Anderson KE, Ricigliano VA. Honey bee gut dysbiosis: a novel context of disease ecology. *Curr. Opin Insect Sci*. 2017; 22: 125–132. DOI: 10.1016/j.cois.2017.05.020.
4. Aurori CM, Buttstedt A, Dezmierean DS, Mărghitaș LA, Moritz RFA, Erler S. What is the main driver of ageing in long-lived winter honeybees: antioxidant enzymes, innate immunity, or vitellogenin? *J. Gerontol. A*. 2014; 69 (6): 633–639. DOI: 10.1093/geronol/glt134.
5. Badiou-Bénéteau A, Carvalho SM, Brunet JL, Carvalho GA, Buleté A, Giroud B, Belzunces LP. Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: application to the systemic insecticide thiamethoxam. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2012; 82: 22–31. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.05.005.
6. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of

- protein-dye binding. *Analyt. Biochem*. 1976; 72 (1–2): 248–254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
7. Cervoni MS, Cardoso-Júnior CAM, Craveiro G, Souza AO, Alberici LC, Hartfelder K. Mitochondrial capacity, oxidative damage and hypoxia gene expression are associated with age-related division of labor in honey bee (*Apis mellifera* L.) workers. *J. Exp. Biol*. 2017; 220 (21): 4035–4046. DOI: 10.1242/jeb.161844.
8. Corona M, Robinson GE. Genes of the antioxidant system of the honey bee: annotation and phylogeny. *Insect Mol. Biol.* 2006; 15 (5): 687–701. DOI: 10.1111/j.1365-2583.2006.00695.x.
9. Di Pasquale G, Salignon M, Le Conte Y, Belzunces LP, Decourtye A, Kretzschmar A, Suchail S, Brunet JL, Alaux C. Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? *PLoS One*. 2013; 8 (8): e72016. DOI: 10.1371/journal.pone.0072016.
10. Döke MA, Frazier M, Grozinger CM. Overwintering honey bees: biology and management. *Curr. Opin. Insect Sci*. 2015; 10: 185–193. DOI: 10.1016/j.cois.2015.05.014.
11. Fedoriak MM, Tymochko LI, Kulmanov OM, Volkov RA, Rudenko SS. Winter losses of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Ukraine (monitoring results of 2015–2016). *Ukr. J. Ecol.* 2017; 7 (4): 604–613. DOI: 10.15421/2017_167.
12. Fedoriak MM, Tymochko LI, Kulmanov OM, Shkrobanets OO, Zhuk AV, Dron YS, Deli OF, Podobivskiy SS, Melnychenko GM, Leheta UV, Kholivchuk AM. Results of annual honey bee colony losses survey in Ukraine: winter 2017–2018. *Biol. Sys*. 2019; 11 (1): 60–70. DOI: 10.31861/biosystems2019.01.060. (in Ukrainian)
13. Grotto D, Santa Maria L, Valentini J, Paniz C, Schmitt G, Garcia SC, Pomblum VJ, Rocha JBT, Farina M. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quim. Nova*. 2009; 32 (1): 169–174. DOI: 10.1590/S0100-40422009000100032.
14. Hatjina F, Costa C, Büchler R, Uzunov A, Drazic M, Filipi J, Charistos L, Ruottinen L, Andonov S, Meixner MD, Bienkowska M, Darisuz G, Panasiuk B, Le Conte Y, Wilde J, Berg S, Bouga M, Dyrba W, Kiprijanovska H, Korpela S, Kryger P, Lodesani M, Pechhacker H, Petrov P, Kezic N. Population dynamics of European honey bee genotypes under different environmental conditions. *J. Apicult. Res*. 2014; 53 (2): 233–247. DOI: 10.3896/IBRA.1.53.2.05.
15. Helmer SH, Kerbaol A, Aras P, Jumarie C, Boily M. Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (*Apis mellifera*). *Environ. Sci. Pollut. Res*. 2015; 22 (11): 8010–8021. DOI: 10.1007/s11356-014-2879-7.
16. Hroncova Z, Havlik J, Killer J, Doskocil I, Tyl J, Kamler M, Titera D, Haki J, Mrazek J, Bunesova V, Rada V. Variation in honey bee gut microbial diversity affected by ontogenetic stage, age and geographic location. *PLoS ONE*. 2015; 10 (3): e0118707. DOI: 10.1371/journal.pone.0118707.
17. Huey RB, Berrigan D. Temperature, demography, and ectotherm fitness. *Am. Nat.* 2001; 158 (2): 204–210. DOI: 10.1086/321314.
18. Karavan VV, Tsaruk VI, Cherevatov VF, Yazlovytska LS. The glutathione-S-transferase activity of *Apis mellifera* L. upon summer feeding with varying carbohydrates diets *Biol. Sys*. 2018; 10 (1): 20–28. (in Ukrainian)
19. Komissar AD. *High-temperature wintering of honey bees*. Kyiv, NPP Laboratory of Biotechnology, Schmalhausen Institute of Zoology, Academy of Sciences of Ukraine, 1994: 166 p. (in Ukrainian)
20. Komissar A. Thermoregulation of honey bees in winter by means of vertical movement in the hives with vertical gradient of temperature. *Proceedings of the 3rd European Congress on Social Insects*, Saint Petersburg, 2005: 78.
21. Kunc M, Dobeš P, Hurychová J, Vojtek L, Poiani SB, Danihák J, Havlík J, Titěra D, Hyršl P. The year of the honey bee (*Apis mellifera* L.) with respect to its physiology and immunity: A search for biochemical markers of longevity. *Insects*. 2019; 10 (8): 244. DOI: 10.3390/insects10080244.
22. Li G, Zhao H, Liu Z, Wang H, Xu B, Guo X. The wisdom of honeybee defenses against environmental stresses. *Front. Microbiol*. 2018; 9: 722. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00722.
23. Münch D, Amdam GV. The curious case of aging plasticity in honey bees. *FEBS Letters*. 2010; 584 (12): 2496–2503. DOI: 10.1016/j.febslet.2010.04.007.

24. Nikolenko AG, Saltykova ES, Gaifullina LR. Molecular mechanisms of antioxidant protective processes in honeybee *Apis mellifera*. In: Farooqui T. *Oxidative stress in vertebrates and invertebrates: molecular aspects on cell signaling*. Ed. by T. Farooqui, A. A. Farooqui. New Jersey; John Wiley & Sons. 2012 (20); 279–294. DOI: 10.1002/9781118148143.ch20.
25. Nürnberg F, Härtel S, Steffan-Dewenter I. The influence of temperature and photoperiod on the timing of brood onset in hibernating honey bee colonies. *Peer J*. 2018; 6: e4801. DOI: 10.7717/peerj.4801.
26. Papandopoulos AI, Polemitou I, Laifi P, Yiango A, Tananaki C. Glutathione S-transferase in the insect *Apis mellifera macedonica*: Kinetic characteristic and effect of stress on the expression of GST isoenzymes in the adult worker bee. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2004; 139 (1–3): 93–97. DOI: 10.1016/S1532-0456(04)00180-2.
27. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Analyt. Biochem.* 1966; 16 (2): 359–364. DOI: 10.1016/0003-2697(66)90167-9.
28. Polischuk VP, Gaidar VA. *Apiary*. Kyiv, Perfect Style Ltd., 2008: 258 p. (in Ukrainian)
29. Ruttner F. *Biogeography and taxonomy of honeybees*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York 1988: 291 p. DOI: 10.1007/978-3-642-72649-1.
30. Seeley TD, Visscher PK. Survival of honeybees in cold climates: the critical timing of colony growth and reproduction. *Ecol. Entomol.* 1985; 10 (1): 81–88. DOI: 10.1111/j.1365-2311.1985.tb00537.x.
31. Southwick EE. Allometric relations, metabolism and heart conductance in clusters of honey bees at cool temperatures. *J. Comp. Physiol. B*. 1985; 156: 143–149. DOI: 10.1007/BF00692937.
32. Stabentheiner A, Kovac H, Brodschneider R. Honeybee colony thermoregulation — regulatory mechanisms and contribution of individuals in dependence on age, location and thermal stress. *PLoS ONE*. 2010; 5 (1): e8967. DOI: 10.1371/journal.pone.0008967.
33. Stabentheiner A, Pressl H, Papst T, Hrassnigg N, Crailsheim K. Endothermic heat production in honeybee winter clusters. *J. Exp. Biol.* 2003; 206 (2): 353–358. DOI: 10.1242/jeb.00082.
34. Stalidzans E, Markovics Z, Krauze A, Bilinskis V, Berzonis A. Modeling of bee wintering building profitability. *J. Apicult. Sci.* 2007; 51 (2): 39–45. Available at: http://www.jas.org.pl:81/pdf/128?filename=jas_51_2_2007_5.pdf
35. Stalidzans E, Zacepins A, Kviess A, Brusbardis V, Meitalovs J, Paura L, Bulipopa N, Liepniece M. Dynamics of weight change and temperature of *Apis mellifera* (*Hymenoptera: Apidae*) colonies in a wintering building with controlled temperature. *J. Econom. Entomol.* 2017; 110 (1): 13–23. DOI: 10.1093/jee/tow282.
36. Switanek M, Crailsheim K, Truhetz H, Brodschneider R. Modelling seasonal effects of temperature and precipitation on honey bee winter mortality in a temperate climate. *Sci. Total Environ.* 2017; 579: 1581–1587. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.11.178.
37. Trapp J, McAfee A, Foster LJ. Genomics, transcriptomics and proteomics: enabling insights into social evolution and disease challenges for managed and wild bees. *Mol. Ecol.* 2017; 26 (3): 718–739. DOI: 10.1111/mec.13986.
38. Wallberg A, Han F, Wellhagen G, Dahle B, Kawata M, Haddad N, Simões ZLP, Allsopp MH, Kandemir I, de la Rúa P, Pirk CW, Webster MT. A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature Genet.* 2014; 46: 1081–1088. DOI: 10.1038/ng.3077.
39. Wang K, Liu ZG, Pang Q, Zhang WW, Chen XM, Fan RL, Yin L, Ji T. Investigating the regulation of hypopharyngeal gland activity in honeybees (*Apis mellifera carnica*) under overwintering conditions via morphologic analysis combined with iTRAQ-based comparative proteomics. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 2018; 111 (3): 127–135. DOI: 10.1093/aesa/say012.
40. Weather archive in Chernivtsi. Ukrainian Hydrometeorological Center. Information server. Available at: <https://meteo.gov.ua/en//33658>
41. Winston ML. *The biology of the honey bee*. Harvard University Press, 1991: 294 p.
42. Yan H, Meng F, Jia H, Guo X, Xu B. The identification and oxidative stress response of a zeta class glutathione S-transferase (GSTZ1) gene from *Apis cerana cerana*. *J. Insect Physiol.* 2012; 58 (6): 782–791. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2012.02.003.
43. Yazlovitska LS, Kosovan MD, Cherevatov VF, Volkov RA. The catalase activity of *Apis mellifera* L. upon summer feeding with varying carbohydrate diet. *Biol. Sys.* 2016; 8 (2): 182–188. DOI: 10.31861/biosystems2016.02.182.(in Ukrainian)
44. Yeskov YK. *The microclimate of the bee dwelling*. Moscow, Rosselhozizdat, 1983: 192 p. (in Russian)
45. Zacepins A. Application of bee hive temperature measurements for recognition of bee colony state. *Proc. AICT2012*, Jelgava, 2012: 216–221.

Influence of wintering temperature on the state of the antioxidative system in *Apis mellifera* L.

V. V. Karavan, D. Yu. Kachmaryk, V. F. Cherevatov, L. S. Yazlovitska
l.yazlovitska@chnu.edu.ua

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
2 Kotsyubynsky str., Chernivtsi, 58012, Ukraine

The state of the antioxidant system of protection of honey bees *Apis mellifera carnica* under the action of different temperatures in order to optimize the temperature regime to keep of bee colonies indoors during the winter was studied. Bee colonies of 81–91-day-old worker bees were transferred from the territory of the Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University apiary during the period of sharp changes in temperature (the end of November) in constant conditions of the buildings ($5\pm 0.6^{\circ}\text{C}$ and $14\pm 0.8^{\circ}\text{C}$) and were kept there for 12 weeks. The selection of worker bees for biochemical analysis was performed 7 times every two weeks. The level of TBA-active products (TBARS), catalase (CAT) and glutathione-S-transferase (GST) activity in insect tagmas (head, thorax and abdomen) were studied. It has been found that the transfer of bee colonies from unstable temperature conditions to stable ones, regardless of their value, leads to a decrease in the flow rate of lipid peroxidation (TBRAS level) against the background of increasing activity of enzymes (CAT та GST). The tagmospecific response of the antioxidant system of honey bees depending on the wintering temperature was revealed. Keeping bee colonies indoors at constant temperatures (for ten weeks) was accompanied by certain coherence in the work of the antioxidant system of insects. In particular, the TBRAS level, as well as the activity of enzymes, did not change significantly during the study. However, in early February (at the end of the experiment), regardless of the building temperature, the TBARS level was increased in the tissues of the bee's head, and in the tissues of the abdomen the GST activity was intensified. At the same time, in the middle of winter (on January), the level of TBARS in bees, that were kept at $+5^{\circ}\text{C}$, was lower in comparison with bees that wintered at $+14^{\circ}\text{C}$. The optimal temperatures for keeping bee colonies in winter indoors was proposed: for bee colonies of medium strength at temperatures around $+5^{\circ}\text{C}$, and for bee colonies of weak strength around $+14^{\circ}\text{C}$ by the end of January with further temperature decrease to $+10^{\circ}\text{C}$.

Key words: *Apis mellifera*, wintering building, temperature, catalase, glutathione-S-transferase, TBARS



Біохімічні маркери функціонального стану гепатобіліарної системи щурів за дії лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

О. В. Кеца, І. Ю. Капітанчук

o.ketsa@chnu.edu.ua

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського 2, м. Чернівці, 58012, Україна

У роботі досліджено маркери функціонального стану органів гепатобіліарної системи — ензимні активності аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), γ -глутамілтрансферази (ГГТ), рівні загального та прямого білірубину, значення тимолової проби у плазмі крові щурів за дії лазерного опромінення у ближньому інфрачервоному діапазоні довжин хвиль та введення ω -3 ПНЖК. Встановлено, що дія лазерного діода довжиною хвилі 650 нм потужністю 50 мВт через шкіру в ділянку черевної порожнини призводить до підвищення у плазмі крові активностей амінотрансфераз та ГГТ поряд із підвищенням рівня загального і прямого білірубину та показника тимолової проби. Показано, що ω -3 поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) проявляють коригувальний ефект на функціональний стан печінки, який залежить від схеми їхнього введення. Найвищий гепатопротекторний ефект досліджуваних есенціальних нутрієнтів виявлений за умов їх попереднього введення до дії лазерного опромінення, про що свідчить зниження гіперферментемії АЛТ, АСТ, ГГТ, зниження рівня загального і прямого білірубину та показника тимолової проби у плазмі крові. Введення ω -3 ПНЖК після закінчення дії лазерного діода не призводить до змін маркерів функціонального стану печінки в плазмі крові щурів порівняно з опроміненими тваринами, яким не вводили досліджуваних ліпофільних нутрієнтів.

Ключові слова: щури, печінка, аланінамінотрансфераза, аспартатамінотрансфераза, γ -глутамілтрансфераза, білірубін, лазерне опромінення, ω -3 поліненасичені жирні кислоти

Лазерне опромінення різної потужності сьогодні широко використовується для корекції патологічних станів. Дія лазерного опромінення провокує характерні зміни у тканинах організму, наслідки якого можуть проявлятися стимуляцією регенеративних процесів у тканинах або різноманітними функціональними порушеннями органів, які виявляються як за прямої, так і опосередкованої дії лазерного діода [14, 15].

Печінка — один із органів, функціональний стан якого змінюється за умов впливу лазерного опромінення. Оскільки печінка — основний гомеостатичний орган організму, то порушення її функціонування призведе до дисбалансу білкового та ліпідного обміну, зниження біотрансформації ксенобіотиків, внаслідок чого спостерігатиметься інтоксикація організму [2, 9].

Для корекції впливу лазерного опромінення на організм можна використовувати біологічні регулятори. До таких біорегуляторів належать ω -3 поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), які, поряд з антиоксидантною

та регуляторною (як попередники ейкозаноїдів) дією, можуть проявляти мембранопротекторні властивості [13]. Дослідження біохімічних показників функціонального стану печінки дозволить оцінити глибину деструктивних змін за умов локальної дії лазерного опромінення в інфрачервоному спектрі та відкрити перспективи для пошуку природних засобів корекції її патологічних станів.

Тому, враховуючи роль печінки у підтриманні гомеостазу організму і для своєчасного виявлення ранніх ознак печінкової дисфункції, доцільним є визначення активності органоспецифічних ензимів, які слугують маркерами функціонального стану гепатоцитів і дають змогу оцінити стан їхніх клітинних мембран, білково-синтетичну та детоксикаційну функції [4].

Мета роботи — оцінити зміни біохімічних маркерів функціонального стану гепатобіліарної системи щурів за дії лазерного опромінення та введення ω -3 поліненасичених жирних кислот.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 120–150 г, яких утримували на звичайному кормовому раціоні виварію. В експерименті було використано 45 тварин, поділених на такі групи: I — інтактні тварини (контроль); II — щури, які зазнавали дії лазерного діюда; III — щури, яким ω -3 ПНЖК вводили після опромінення лазером; IV — щури, яким ω -3 ПНЖК вводили щоденно за дві години до лазерного опромінення; V — щури, яким ω -3 ПНЖК вводили сім днів перед застосуванням лазерного опромінення.

Утримання і всі маніпуляції з тваринами проводили згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) (Протокол №1 від 23.09.2021 р. Комітету з Біоетики Навчально-наукового інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича).

Щурів опромінювали лазерним діюдом у червоному діапазоні спектра (довжина хвилі 650 нм) потужністю 50 мВт через шкіру в ділянку червоної порожнини щоденно протягом 4 хв. Для корекції можливої негативної дії лазера тваринам вводили ω -3 ПНЖК до, під час та після опромінення. Джерелом ω -3 ПНЖК слугував комерційний препарат *Vitrum Кардіо Омега-3 (Unipharm, Inc., США)* тваринного походження (риб'ячий жир), який містив 32% ейкозапентаєнової кислоти і 24% докозагексаєнової кислоти. Жирні кислоти в ри�'ячому жирі ідентифікували методом газової хроматографії на хроматографі *HRGC 5300* (Італія). Для аналізу індивідуальних жирних кислот використовували стандартні препарати фірми *Sigma*. ω -3 ПНЖК вводили *per os* у щоденній дозі 120 мг/кг маси тіла тварин.

Евтаназію тварин проводили під ефірним наркозом на 7-у та 14-у доби після початку опромінення. У роботі використовували плазму крові з 3,2% цитратом натрію у співвідношенні кров : антикоагулянт — 9:1. Кров брали з хвостової вени щурів. У плазмі крові визначали ензимну активність аланін-амінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ) і γ -глутамілтрансферази (ГГТ).

Метод визначення активностей АЛТ та АСТ ґрунтується на вимірюванні оптичної щільності динітрофенілгідразонів пірувату, які в лужному середовищі дають коричнево-червоне забарвлення, інтенсивність якого пропорційна кількості утвореного пірувату. Кількість утвореного пірувату дозволяє оцінити активність ензимів. Активність амінотрансфераз виражали у мкмоль пірувату/мл, утвореного за 1 год. інкубації за температури 37°C [10, 18]. Активність ГГТ визначали за швидкістю утворення 3-карбоксі-4-нітроаніліну і виражали в Од/л [12].

Визначення загального білірубіну проводили за допомогою методу, заснованого на хімічному окисненні з використанням ванадату як окиснювача. У присутності детергента та ванадату в кислому розчині загальний білірубін (як кон'югований — прямий, так і некон'югований білірубін) окиснюється з утворенням продукту жовтого кольору, який реєстрували фотометрично при $\lambda=420$ нм. Вміст прямого білірубіну визначали з використанням діазореактиву, який з прямим білірубіном дає рожеве забарвлення. Інтенсивність забарвлення розчину (азобілірубін) пропорційна концентрації прямого білірубіну, яку визначали фотометрично при $\lambda=530$ нм [16].

Оцінку білково-синтетичної функції проводили за допомогою тимолової проби. Принцип методу полягає у тому, що за додавання до плазми крові тимолового реактиву з'являється помутніння внаслідок утворення глобулін-тимолово-ліпідного комплексу. За ступенем помутніння фотометрично визначали утворення комплексу за довжини хвилі 620–650 нм. Показник тимолової проби виражали в одиницях помутніння за Shank-Hoagland (од. S-H) [6].

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням *t*-критерію Стьюдента. Різницю між групами вважали вірогідною за коефіцієнта вірогідності $P \leq 0,05$.

Результати й обговорення

Низькоінтенсивне імпульсне або неперервне лазерне опромінення сьогодні широко використовується у дерматології, онкології та фізіотерапії. Проте механізми його впливу на органи гепатобіліарної системи вивчені недостатньо, оскільки за локальної дії лазерне опромінення може індукувати дозозалежну загибель клітин за рахунок збільшення концентрації внутрішньоклітинних активних форм кисню (АФО), збільшувати пошкодження ДНК, сприяти зниженню мітохондріального потенціалу [5, 11]. Ці ефекти лазерного опромінення можуть обмежити застосування фотодинамічної терапії.

Основними ензимами, активність яких відображає функціональний стан печінки, є амінотрансферази — АЛТ та АСТ. Результати проведених досліджень показали, що семиденне лазерне опромінення у ділянку червоної порожнини призводить до підвищення ензимних активностей амінотрансфераз у плазмі крові. Активність АЛТ у 2,4 раза (рис. 1А), а активність АСТ удвічі (рис. 1Б) перевищували показники інтактних тварин після семиденного лазерного опромінення. Посилення гіперферментемії спостерігалось після 14-денного застосування лазера, коли ензимні активності АЛТ та АСТ у 3,9 та 2,9 раза відповідно перевищували показники контролю (рис. 1).

Виявлена нами гіперферментемія може бути наслідком пошкодження клітин печінки, оскільки внаслідок цитолізу ці ензими можуть потрапляти у кров,

що виражається збільшенням їх активності. В інтактних тварин активність трансаміназ у плазмі крові відображає рівновагу між їх вивільненням у результаті апоптозу постарілих гепатоцитів і елімінацією. Водночас підвищення активності трансаміназ у плазмі крові відображає пошкодження і загибель гепатоцитів, що вказує на дисфункцію печінки [3].

Дисфункціонування печінки за дії щоденного 4-хвилинного лазерного опромінення може виникати за рахунок генерації АФО, що робить необхідним застосування природних антиоксидантів, зокрема ω -3 ПНЖК.

Аналіз результатів дослідження амінотрансфераз у плазмі крові з різними схемами введення ω -3 ПНЖК показав, що за умов їх завчасного введення перед опроміненням рівень ензиматичних активностей АЛТ та АСТ не відрізнявся від показників інтактних тварин на 7-му добу опромінення. Оскільки ω -3 ПНЖК проявляють мембранопротекторні властивості [17], то їх попереднє введення, можливо, супроводжується вбудовуванням у мембрани, що робить останні стійкішими до вільнорадикальної деструкції, спричиненої дією лазерного опромінення. При цьому знижується вихід амінотрансфераз у кров'яне русло. В міру віддалення від терміну введення ω -3 ПНЖК, на 14-у добу виявлено незначне підвищення амінотрансфераз у плазмі крові: в 1,5 раза підвищувалася активність АЛТ (рис. 1А) і в 1,2 раза — АСТ (рис. 1Б) порівняно з контролем. Вочевидь, спостерігається пролонгована дія попереднього введення ω -3 ПНЖК, які стабілізують внутрішньоклітинні структури печінки за рахунок їх вбудовування у фосфоліпіди мембран [1]. Введення ω -3 ПНЖК після закінчення дії опромінення не проявляло протективного ефекту на клітини печінки, оскільки значення активностей амінотрансфераз не відрізнялися від показників групи опромінених тварин, яким не вводили ліпофільних нутрієнтів. Встановлено, що ω -3 ПНЖК проявляли незначний протективний ефект, коли їх вводили за дві години до дії лазерного опромінення, оскільки ензимна активність АЛТ та АСТ знижувалася порівняно з опроміненими тваринами, проте не досягала значень контролю (рис. 1).

Підвищення рівня ензимної активності амінотрансфераз у плазмі крові, очевидно, зумовлене негативним впливом низькоінтенсивного лазерного опромінення на внутрішні мембрани та плазмолему клітин печінки. Іншою причиною гіперферментемії АЛТ і АСТ можуть бути метаболічні та циркуляторні ураження печінки за дії опромінення. Попереднє введення ω -3 ПНЖК сприяє стабілізації внутрішньоклітинних мембран.

Оскільки до гепатобілярної системи також входить і жовчний міхур, то за умов лазерного опромінення можуть спостерігатися порушення і його роботи. Стан цього органу оцінювали за рівнем загального та прямого білірубину. Встановлено, що у тварин, які зазнавали дії лазерного опромінення, у плазмі крові вміст загального білірубину перевищував показник контролю в 1,8 раза — після 7-денного опромінення та у 2,5 раза — після 14-денного опромінення (рис. 2).

Поряд з підвищенням рівня загального білірубину в плазмі крові опромінених тварин підвищувався рівень прямого білірубину. Проте таке підвищення незначне, оскільки на 7-у добу опромінення він в 1,3 раза, а на 14-у — в 1,6 раза перевищував показник інтактних тварин (рис. 3). Підвищення рівня прямого білірубину в плазмі крові вказує на порушення відтоку жовчі у жовчовивідних шляхах. Встановлений факт свідчить про те, що рівень загального білірубину підвищується за рахунок фракції саме непрямого білірубину [7], а це може свідчити про порушення процесів глюкуронування у печінці за дії опромінення.

Коригувальний вплив на стан гепатобілярної системи мають ω -3 ПНЖК за умов їх попереднього введення, оскільки рівні загального та прямого білірубину не відрізнялися від показників контролю на 7-у добу опромінення та незначно підвищувалися на 14-у добу (рис. 2, рис. 3). Під час застосування ω -3 ПНЖК після закінчення дії опромінення рівень загального та прямого білірубину не відрізнявся від показників групи тварин, які зазнавали дії лазерного діода і не отримували ω -3 ПНЖК. Введення ω -3 ПНЖК за дві години до дії лазерного опромінення призводить до підвищення рівня загального та прямого білірубину в плазмі крові після 14-денного опромінення порівняно з показниками інтактних тварин, проте такі зміни не досягають рівня показників групи опромінених тварин, яким не вводили ω -3 ПНЖК (рис. 2, рис. 3). Імовірно, щоденне попереднє введення ω -3 ПНЖК спочатку може проявляти антиоксидантний ефект, а в міру збільшення терміну опромінення ω -3 ПНЖК стають субстратами дії АФО, що призводить до ліпопероксидації і порушення функцій органів гепатобілярної системи.

Отже, за умов лазерного опромінення в печінці відбувається порушення реакцій перетворення білірубину, а гіпербілірубінемія розвивається за рахунок підвищення обох фракцій. Кількість вільного білірубину може зростати у зв'язку з функціональною недостатністю гепатоцитів і зниженням їх кількості, а зв'язаного — за рахунок збільшення проникності мембран клітин печінки, а також через порушення секреції з жовчю. Ці зміни вказують на ураження паренхіми печінки. Найбільший коригувальний вплив на печінку ω -3 ПНЖК мають за умов їх введення до початку опромінення.

Дослідження ензимної активності ГГТ як маркера стану гепатобілярної системи у плазмі крові опромінених щурів показало її підвищення в міру збільшення терміну опромінення порівняно з неопроміненими тваринами (рис. 4). Оскільки ГГТ у великій кількості локалізована на мембранах клітин печінки, то підвищення активності цього ензиму в крові свідчить про пошкодження клітин печінки [8]. Використання ω -3 ПНЖК як протекторів біологічних мембран показало найбільше підвищення активності ГГТ в плазмі крові за умов їх введення після закінчення двотижневого опромінення, що свідчить про низьку ефективність досліджуваних нутрієнтів за такої схеми введення.

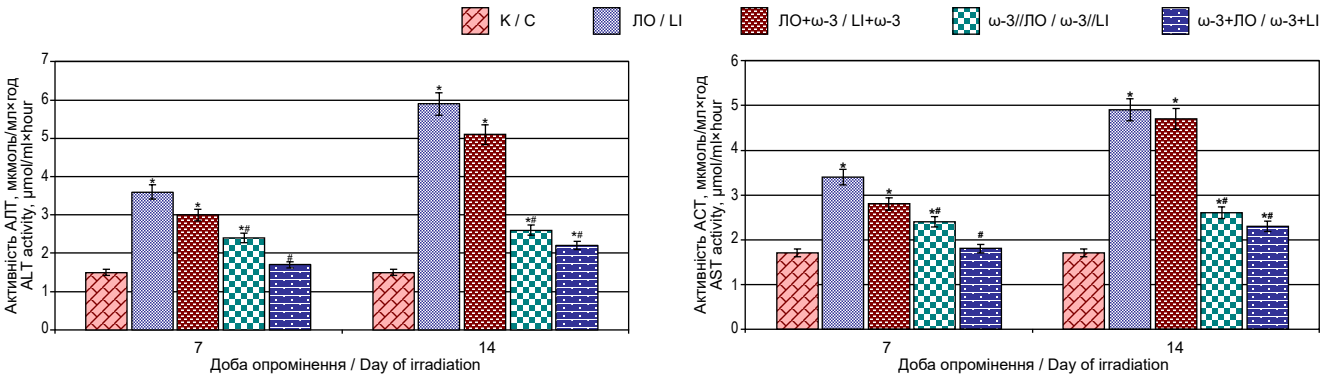


Рис. 1. Аланінамінотрансферазна (А) та аспаратамінотрансферазна (Б) активності у плазмі крові щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Fig. 1. Alanine aminotransferase (A) and aspartate aminotransferase (B) activity in the blood plasma of rats under conditions of low-intensity laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

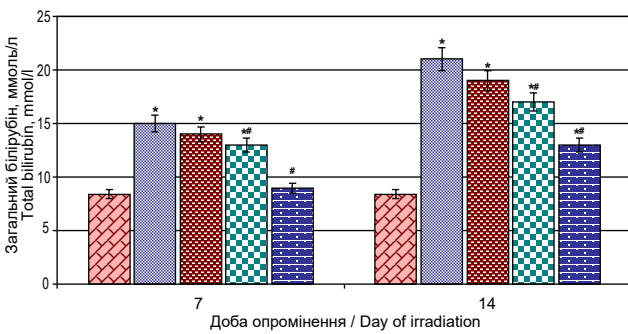


Рис. 2. Вміст загального білірубину в плазмі крові щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Fig. 2. The content of total bilirubin in the blood plasma of rats under conditions of low-intensity laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

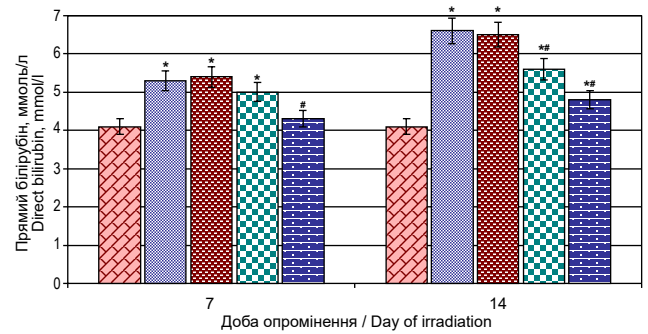


Рис. 3. Вміст прямого білірубину в плазмі крові щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Fig. 3. The content of direct bilirubin in the blood plasma of rats under conditions of low-intensity laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

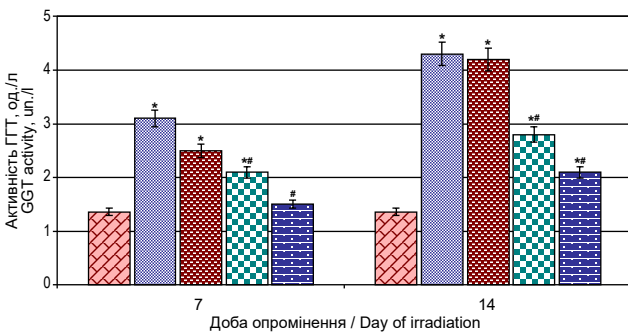


Рис. 4. Ензимна активність γ -глутамілтрансферази у плазмі крові щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Fig. 4. Enzymatic activity of γ -glutamyltransferase in the blood plasma of rats under conditions of low-intensity laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

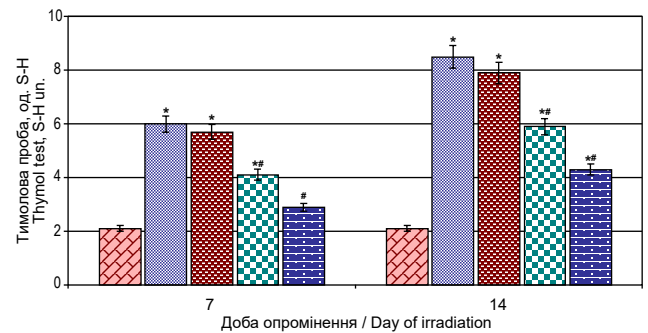


Рис. 5. Рівень тимолової проби у плазмі крові щурів за умов дії низькоінтенсивного лазерного опромінення та ω -3 поліненасичених жирних кислот

Fig. 5. The level of thymol test in the blood plasma of rats under conditions of low-intensity laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

Примітка. К — інтактні тварини (контроль); ЛО — щури, які зазнавали дії лазерного діода; ЛО+ ω -3 — щури, яким після опромінення лазером вводили ω -3 ПНЖК; ω -3//ЛО — щури, яким ω -3 ПНЖК вводили щоденно за дві години до лазерного опромінення; ω -3+ЛО — щури, яким ω -3 ПНЖК вводили 7 днів попередньо перед застосуванням лазерного опромінення.

* — статистично вірогідна різниця порівняно з показником інтактних тварин ($P \leq 0,05$);

— статистично вірогідна різниця порівняно з показником опромінених щурів ($P \leq 0,05$).

Note. C — intact animals (control); LI — rats which were irradiated with a laser diode;

LI+ ω -3 — rats which after laser irradiation were injected ω -3 PUFA; ω -3//LI — rats, which were injected ω -3 PUFA daily two hours

before laser irradiation; ω -3+LI — rats which were injected ω -3 PUFA 7 days before the laser irradiation.

* — statistically significant difference compared with control ($P \leq 0,05$);

— statistically significant difference compared to irradiated rats ($P \leq 0,05$).

Водночас попереднє введення ω -3 ПНЖК перед опроміненням мало найвищий коригувальний вплив на печінку, оскільки активність ГГТ не відрізнялася від показників контролю після 7-денного опромінення та підвищувалася лише після 14-денного опромінення в 1,5 раза порівняно з контролем. Щоденне введення ω -3 ПНЖК за дві години до дії лазерного діода також проявляло протекторний ефект на печінку, оскільки сприяло зниженню активності ГГТ в плазмі крові порівняно з опроміненними тваринами, проте не досягало значень контролю (рис. 4).

Виявлене підвищення активностей амірансфераз та ГГТ у плазмі крові за умов дії лазерного діода в ділянку черевної порожнини може свідчити не лише про порушення структури гепатоцитів, але й їх функціонального стану. Щоб перевірити це припущення, ми визначили показник тимолової проби для оцінки білково-синтетичної функції печінки.

Результати проведених досліджень показали, що за дії лазерного опромінення рівень тимолової проби підвищувався у 2,9 раза — після 7-денного опромінення і в 4,1 раза — після 14-денного опромінення (рис. 5). Імовірно, за дії лазерного опромінення у печінці відбувається зміна балансу синтезу білків, внаслідок чого у крові зменшується кількість альбуміну, що призводить до швидшого осадження інших фракцій (β - і γ -глобулінів) при взаємодії з тимолом [7].

Корекція синтетичної функції печінки здійснювалася за дії ω -3 ПНЖК, особливо за умов їхнього попереднього введення до дії лазера. Так, у цієї групи тварин показник тимолової проби в 1,4 і 2 рази перевищував показник контролю на 7-у та 14-у доби опромінення відповідно. Введення ω -3 ПНЖК після двотижневої дії лазера не призводило до зміни показника тимолової проби порівняно з опроміненними тваринами, що свідчить про низьку ефективність ліпофільних нутрієнтів за цих умов. Введення ω -3 ПНЖК щоденно за дві години до опромінення проявляло низький коригувальний ефект на синтетичну функцію печінки (рис. 5).

Отже, застосування лазерного опромінення за експозиції 4 хв. щоденно у ділянку черевної порожнини після попереднього введення ω -3 ПНЖК знижує порушення функціонального стану печінки.

Висновки

1. Локальна дія низькоінтенсивного лазерного опромінення в ділянку черевної порожнини супроводжується змінами функціонального стану печінки, про що свідчать підвищені активності амірансфераз та ГГТ у плазмі крові поряд з підвищенням рівня загального і прямого білірубину і показника тимолової проби у крові.

2. Коригувальний ефект на функціональний стан печінки проявляють ω -3 ПНЖК. Однак протекторні властивості досліджуваних ліпофільних нутрієнтів залежать від схеми їхнього введення. Встановлено,

що найвищий гепатопротекторний ефект ω -3 ПНЖК проявляють за умов введення до дії лазерного опромінення, про що свідчить зниження гіперферментемії АЛТ, АСТ, ГГТ, зниження рівня фракцій білірубину і показника тимолової проби у плазмі крові.

Перспективи подальших досліджень

Дослідження біохімічних механізмів протективної дії ω -3 ПНЖК за умов впливу лазерного опромінення на органи дадуть змогу широкого застосування цього виду терапії у медицині.

1. Aye MAA, Bunker BC, De Groot JL. Membrane modulatory effects of omega-3 fatty acids: Analysis of molecular level interactions. *Curr. Top. Membr.* 2020; 86: 57–81. DOI: 10.1016/bs.ctm.2020.08.001.
2. Bissig KD, Han W, Barzi M, Kovalchuk N, Ding L, Fan X, Pan-kowicz FP, Zhang QY, Ding X. P450-humanized and human liver chimeric mouse models for studying xenobiotic metabolism and toxicity. *Drug Metab. Dispos.* 2018; 46 (11): 1734–1744. DOI: 10.1124/dmd.118.083303.
3. Chen L, Chen R, Kemper S, Cong M, You H, Brigstock DR. Therapeutic effects of serum extracellular vesicles in liver fibrosis. *J. Extracell. Vesicles.* 2018; 7 (1): 1461505. DOI: 10.1080/20013078.2018.1461505.
4. De Avelar CR, Pereira EM, de Farias Costa PR, de Jesus RP, de Oliveira LPM. Effect of silymarin on biochemical indicators in patients with liver disease: Systematic review with meta-analysis. *World J. Gastroenterol.* 2017; 23 (27): 5004–5017. DOI: 10.3748/wjg.v23.i27.5004.
5. Jampa-Ngern S, Viravaidya-Pasuwat K, Suvanasuthi S, Khantachawana A. Effect of laser diode light irradiation on growth capability of human hair follicle dermal papilla cells. *39th Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2017: 3592–3595. DOI: 10.1109/EMBC.2017.8037634.
6. Kunkel HG, Hoagland CL. Mechanism and significance of the thymol turbidity test for liver disease. *J. Clin. Invest.* 1947; 26 (6): 1060–1071. DOI: 10.1172/JCI101898.
7. Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG clinical guideline: evaluation of abnormal liver chemistries. *Am. J. Gastroenterol.* 2017; 112 (1): 18–35. DOI: 10.1038/ajg.2016.517.
8. Lozano-Paniagua D, Parrón T, Alarcón R, Requena M, López-Guamido O, Lacasaña M, Hernández AF. Evaluation of conventional and non-conventional biomarkers of liver toxicity in greenhouse workers occupationally exposed to pesticides. *Food Chem. Toxicol.* 2021; 151: 112127. DOI: 10.1016/j.fct.2021.112127.
9. Michalopoulos GK, Bhushan B. Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2021; 18 (1): 40–55. DOI: 10.1038/s41575-020-0342-4.
10. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia, W.B Saunders Company, 1999: 617–721.
11. Muster B, Rapp A, Cardoso MC. Systematic analysis of DNA damage induction and DNA repair pathway activation by continuous wave visible light laser micro-irradiation. *AIMS Genet.* 2017; 4 (1): 47–68. DOI: 10.3934/genet.2017.1.47.
12. Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Féraud G, Ferrero CA, Franck PFH, Gella FJ, Hoelzel W, Jørgensen PJ, Kanno T, Kessner A, Klauke R, Kristiansen N, Lessinger JM, Linsinger TPJ, Misaki H, Panteghini M, Pauwels J, Schiele F, Schimmel HG. IFCC Primary reference procedures for the measurements of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 6.

- Reference procedure for the measurements of catalytic concentration of γ -glutamyltransferase. *Clin. Chem. Lab Med.* 2002; 40 (7): 734–738. DOI: 10.1515/CCLM.2002.126.
13. Shahidi F, Ambigaipalan P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 2018; 9: 345–381. DOI: 10.1146/annurev-food-111317-095850.
 14. Shobha R, Narayanan VS, Jagadish Pai BS, Jaishankar HP, Jijin MJ. Low-level laser therapy: A novel therapeutic approach to temporomandibular disorder — A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Indian J. Dent. Res.* 2017; 28 (4): 380–387. DOI: 10.4103/ijdr.IJDR_345_15.
 15. Shurygina IP, Zilov VG, Smekalkina LV, Naprienko MB, Safonov MI, Akulov SN. Effect of infrared low-intensity laser irradiation on lipid peroxidation under conditions of experimental circulatory hypoxia of visual analyzer. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2020; 168 (5): 602–604. DOI: 10.1007/s10517-020-04760-6.
 16. Simmons NA. An automated method for serum bilirubin determination. *J. Clin. Path.* 1968; 21: 196–201. DOI: 10.1136/jcp.21.2.196.
 17. Sullivan EM, Pennington ER, Green WD, Beck MA, Brown DA, Shaikh SR. Mechanisms by which dietary fatty acids regulate mitochondrial structure-function in health and disease. *Adv. Nutr.* 2018; 9 (3): 247–262. DOI: 10.1093/advances/nmy007.
 18. Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST). In: *Clinical Laboratory Diagnostics*. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998: 55–65.

Biochemical markers of hepatobiliary system functional state in rats under the action of laser irradiation and ω -3 polyunsaturated fatty acids

O. V. Ketsa, I. Y. Kapitanchuk
o.ketsa@chnu.edu.ua

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
2 Kotsyubynskoho str., Chernivtsi, 58012, Ukraine

Markers of the functional state of the hepatobiliary system — enzymatic activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), γ -glutamyltransferase (GGT), levels of total and direct bilirubin, the value of thymol probe in the plasma of the diaphragm waves and the introduction of ω -3 PUFA were investigated. It has been found that the action of laser irradiation in blood plasma increases the enzymatic activities of aminotransferases and GGT, along with an increase in the level of total and direct bilirubin and thymol index. The corrective effect on the liver functional state is shown by ω -3 polyunsaturated fatty acids (PUFA). It has been established that the protective properties of ω -3 PUFAs depend on the scheme of their introduction. The highest hepatoprotective effect of ω -3 PUFAs is manifested under the conditions of their previous introduction to the action of laser irradiation, as evidenced by a decrease in hyperenzymemia ALT, AST, GGT, a decrease in total and direct bilirubin and thymol in plasma. The introduction of ω -3 PUFA after the end of the laser diode does not change the markers of the functional state of the liver in blood plasma compared with irradiated animals that were not injected with the studied lipophilic nutrients.

Key words: rats, liver, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, γ -glutamyltransferase, bilirubin, laser irradiation, ω -3 polyunsaturated fatty acids



Біохімічні маркери функціонального стану печінки у сироватці крові щурів за дії гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Раундап»

I. В. Чорна¹, Г. В. Дроник², В. І. Куліш²

chorna8@ukr.net

¹Інститут післядипломної педагогічної освіти Чернівецької області, вул. І.Франка, 20, м. Чернівці, 58002, Україна, тел. (+38 0372) 52-73-36

²Буковинська державна сільськогосподарська дослідна станція Інституту сільського господарства Карпатського регіону НААН, вул. Богдана Крижанівського, 21, м. Чернівці, 58025, Україна, тел. (+38 0372) 52-92-20

Досліджено вплив гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду на ферментативну активність аспартатамінотрансферази (АСТ), аланінамінотрансферази (АЛТ) та γ -глутамілтрансферази (ГГТ), а також на вміст середніх молекул у сироватці крові щурів. Дослідження проводили на щурах лінії Вістар, поділених на п'ять груп: I група — інтактна; II група — у раціоні щурів 25% корму за поживністю замінювали на традиційну сою; III група щурів — вживали корм, який містив генномодифіковану сою, не оброблену гербіцидом «Раундап»; IV група — вживали корм, який містив генномодифіковану сою, оброблену гербіцидом; V група — разом з питною водою отримували гербіцид «Раундап». Через 42 дні після початку вживання традиційної та генетично модифікованої сої самок всіх груп запліднили і вони продовжували отримувати той же раціон та гербіцид у питній воді. Через 22–24 дні одержували наступне покоління. Встановлено, що у першому і другому поколінні щурів за умов застосування гербіциду «Раундап» та обробленої цим гербіцидом трансгенної сої спостерігається гіперферментемія АЛТ, АСТ та ГГТ порівняно з контролем. При цьому коефіцієнт де Рітца знижується до значення 0,9 та 0,8 у щурів, які отримували сою «Roundup Ready» і гербіцид відповідно. Показано, що за вживання генетично модифікованої сої, обробленої гербіцидом, і за ведення гербіциду у сироватці крові щурів першого покоління в 1,5 та 1,6 рази підвищується рівень молекул середньої маси (МСМ) у першому поколінні щурів; підвищення МСМ спостерігається і в другому поколінні, що свідчить про синдром ендогенної інтоксикації.

Ключові слова: аспартатамінотрансфераза, аланінамінотрансфераза, γ -глутамілтрансфераза, молекули середньої маси, гербіцид «Раундап», генетично модифікована соя, сироватка крові, печінка

Розвиток методів генної інженерії та біотехнології призвів до отримання дедалі більшої кількості генетично змінених сортів рослин, які широко використовують у сільському господарстві, харчовій промисловості та медицині. Генетично модифіковані організми (ГМО), отримані штучним внесенням гена одного організму в ДНК іншого (часто віддаленого виду), набувають бажаних властивостей та ознак, однак можуть негативно впливати на організми, які їх споживають [10].

Соя — дуже поширена у сільському господарстві культура завдяки наявності у її складі високого вмісту протеїну (38–42%). Для підвищення рентабельності

виробництва широко використовують генетично модифіковані сорти рослин. Генетично модифіковані сорти сої створюють, щоб підвищити врожайність та покращити біологічну цінність зерна. Генетично модифікована соя «Roundup Ready» стійка до дії гербіциду «Раундап» за рахунок інсерції у її ДНК гена бактерії *Agrobacterium tumefaciens*. У трансгенній сої синтезується бактеріальна EPSPS, яка замінює інгібований гербіцидом ензим у рослині, внаслідок чого та набуває стійкості до гліфосату [8]. Оскільки одним зі способів знищення бур'янів є оброблення їх гербіцидом «Раундап», то цей гербіцид може накопичуватися у насінні

сої й негативно впливати на організм [2, 10, 15]. Отже, актуальним видається вивчення впливу дієт, які містять генетично модифіковану сою, на функціонування основного гомеостатичного органу — печінки. Визначення активності у сироватці крові амінотрансфераз аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ) та γ -глутамілтрансферази (ГГТ) дозволить передбачити функціональні порушення у печінці, оскільки ці ферменти мають органоспецифічність [5, 11].

Ймовірно, що гербіцид «Раундап» як ксенобіотик біотрансформується системою цитохрому P450 печінки у потенційно токсичні метаболіти, здатні провокувати пошкодження клітинних мембран [7]. Один із механізмів такого пошкодження — ініціація пероксидного окиснення ліпідів мембран ендоплазматичного ретикула, мітохондрій, плазматичної мембрани клітин печінки [6]. Внаслідок пошкодження плазмолемми або цитолізу гепатоцитів АСТ і АЛТ потрапляють у кров, що виявляється збільшенням їх концентрації.

Ще один фермент, який є маркером функціонального стану печінки, — γ -глутамілтрансфераза. ГГТ в організмі людини і тварин відіграє важливу роль в метаболізмі глутатіону та каталізує перенесення γ -глутамільного залишку на амінокислоту або пептид; за допомогою цього відбувається транспорт амінокислот через плазматичну мембрану клітин. У нормі ферментативна активність ГГТ у сироватці крові незначна. Основною причиною підвищення γ -глутамілтрансферазної активності в сироватці крові є патологія печінки [7].

МСМ — вторинні ендогенні токсини пептидної природи, які можуть слугувати маркерами «метаболічної інтоксикації» організму за різних шкідливих впливів і захворювань. Синдром ендогенної інтоксикації супроводжується накопиченням у крові, фізіологічних рідинах і деяких тканинах середніх молекул (СМ) — речовин молекулярною масою від 300 до 600 Да, які є продуктами порушеного обміну речовин у тканинах. Вважають, що до 80% СМ — продукти порушеного білкового обміну внаслідок активації протеаз в умовах аномального протеолізу. За пошкодження печінки рівень СМ майже у всіх її фракціях має тенденцію до підвищення, що пов'язане, ймовірно, з деструкцією печінки і подальшим виходом пептидів у кров [4].

Мета роботи — встановити особливості змін ферментативних активностей АЛТ, АСТ, ГГТ і вмісту середніх молекул у сироватці крові щурів двох поколінь (F_0 та F_1) за дії гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Раундап».

Матеріали і методи

Дослідження проводили на 4-місячних щурах лінії Вістар масою 180–200 г, які отримували стандартний, збалансований за всіма нутрієнтами раціон. У роботі дотримувалися нормативів поводження з лабораторними тваринами відповідно до «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, що використо-

вуються для експериментальних чи інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) [3].

В експерименті використано 60 тварин, яких поділили на п'ять груп по 12 щурів у кожній: I — інтактні тварини, отримували стандартний раціон віварію; II — тварини, яким 25% стандартного раціону замінили на традиційну сою; III — щури, яким 25% стандартного раціону замінили на генетично модифіковану сою, не оброблену гербіцидом «Раундап»; IV — щури, раціон яких містив 25% генетично модифікованої сої, обробленої гербіцидом «Раундап»; V — щури, яким вводили гербіцид «Раундап» у дозі 0,003 мг/кг маси тварини.

Зразки сої обох сортів (традиційної та генетично модифікованої) перевіряли на наявність генетичної модифікації, яку визначали за двома методами — якісного та кількісного аналізу [12, 13]. У зразку №2 виявлені цільові послідовності промотора ^{35}S вірусу мозаїки цвітної капусти (CaMV) і термінатора NOS (T-NOS) T1 плазміди *Agrobacterium tumefaciens*. Для знешкодження антипоживних речовин та зниження уреазної активності соєві боби перед додаванням до кормів термічно обробляли впродовж 2 год. за температури +140°C.

Через 42 доби після початку вживання традиційної та генетично модифікованої сої самок досліджуваних груп спарували і вони продовжували отримувати той же раціон. Через 22–28 днів після запліднення було отримано щурів покоління F_1 , які одержували ті самі раціони. У 12-місячному віці самок щурів декапітували і провели забір крові для біохімічних досліджень. Декапітацію проводили під легким ефірним наркозом, без порушень норм гуманного поводження з лабораторними тваринами, з урахуванням загальноприйнятих біоетичних норм і дотриманням міжнародних положень про проведення експериментальних робіт.

У сироватці крові визначали ферментативну активність аланін- і аспартатамінотрансферази методом Рейтмана-Френкеля [9, 14], γ -глутамілтрансферазну активність за методикою [1]. Вміст молекул середньої маси визначали за методом [4] та виражали в умовних одиницях, кількісно рівних показникам екстинції на мг протеїну.

Для оцінки відмінностей між групами використовували параметричний критерій t -Ст'юдента, оскільки вибірки порівнювали за середніми значеннями двох груп, водночас спостерігали нормальність розподілу ознаки в обох порівнюваних групах.

Результати й обговорення

Для виявлення впливу трансгенної сої на печінку щурів у сироватці крові визначали ферментативну активність амінотрансфераз, які є внутрішньоклітинними ферментами і беруть участь в обміні амінокислот.

Результати проведених досліджень показали, що за додавання до дієти щурів як традиційної, так і генетично модифікованої сої у сироватці крові

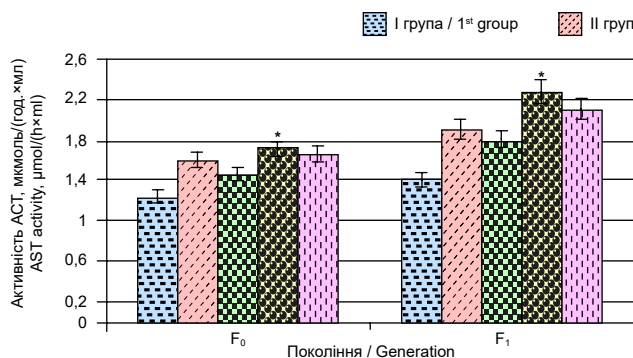


Рис. 1. Аспартатамінотрансферазна активність у сироватці крові щурів за дії гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Раундап»
Fig. 1. Aspartate aminotransferase activity in the rats serum under the action of glyphosate-resistant genetically modified soybeans and "Roundup" herbicide

Примітка. У першому (F₀) поколінні: * — P≤0,02 порівняно з показниками щурів, які вживали необроблену гербіцидом трансгенну сою. У другому (F₁) поколінні: * — P≤0,001 порівняно з показниками щурів, які вживали необроблену гербіцидом трансгенну сою.
Note. In the first (F₀) generation: * — P≤0.02 compared to rats consuming untreated transgenic soybean. In the second (F₁) generation: * — P≤0.001 compared to rats consuming untreated transgenic soybean.

щурів покоління F₀ спостерігається підвищення ферментативної активності АСТ в 1,3 раза відповідно порівняно з показниками, характерними для контрольної групи щурів. Водночас у сироватці крові щурів покоління F₁ аспартатамінотрансферазна активність підвищується суттєвіше, однак різниці у показниках між щурами, які отримували традиційну та генетично модифіковану сою, не виявлено (рис. 1).

У результаті досліджень встановлено, що в щурів, які отримували генетично модифіковану сою, оброблену «Раундапом», спостерігається найвища гіперферментемія АСТ у F₁ поколінні. Виявлена гіперферментемія пов'язана саме з дією гербіциду, оскільки його додавання до раціону щурів різко підвищує аспартатамінотрансферазну активність у сироватці крові щурів F₁-покоління (рис. 1).

Виявлена гіперферментемія АСТ може бути наслідком пошкодження плазматичних мембран внутрішніх органів тварин, внаслідок чого внутрішньоклітинний ензим вивільняється у кров'яне русло [3].

Активність АЛТ у сироватці крові суттєво не відрізняється у груп тварин, яким до раціону додавали традиційну та генетично модифіковану сою у поколіннях F₀ та F₁. Однак ферментативна активність АЛТ різко підвищується у тварин, які отримували генетично модифіковану сою, оброблену цим гербіцидом. Причому така тенденція виражена і в F₁-поколінні (рис. 2).

Приріст АЛТ, який перевищує підвищення АСТ, характерніший для пошкодження печінки. Якщо ж показник АСТ підвищується більше, ніж АЛТ, — як правило, це свідчить про порушення клітин міокарда [6]. Щоб перевірити, порушенням якого саме органу супроводжується гіперферментемія АСТ та АЛТ, ми розраховали співвідношення АСТ/АЛТ, тобто визначили коефіцієнт

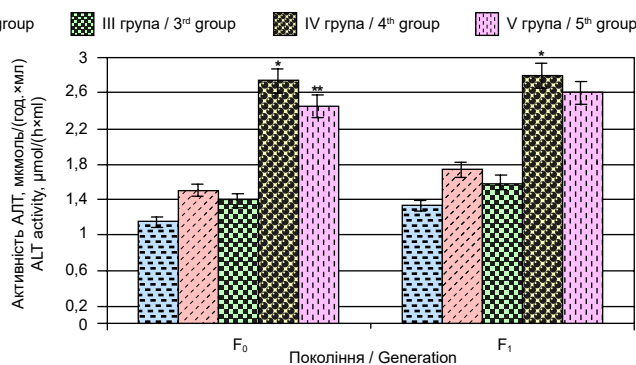


Рис. 2. Аланінамінотрансферазна активність у сироватці крові щурів за дії гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Раундап»
Fig. 2. Alanine aminotransferase activity in the rats serum under the action of glyphosate-resistant genetically modified soybeans and "Roundup" herbicide

Примітка. У першому (F₀) поколінні: * — P≤0,001 порівняно з показниками щурів, які вживали необроблену гербіцидом трансгенну сою; ** — P≤0,05 порівняно з показниками щурів, які вживали оброблену гербіцидом трансгенну сою. У другому (F₁) поколінні: ** — P≤0,001 порівняно з показниками щурів, які вживали необроблену гербіцидом трансгенну сою.
Note. In the first (F₀) generation: * — P≤0.001 compared to rats consuming untreated transgenic soybean; ** — P≤0.05 compared to rats consuming herbicide-treated transgenic soybeans. In the second (F₁) generation: ** — P≤0.001 compared to rats consuming untreated transgenic soybean.

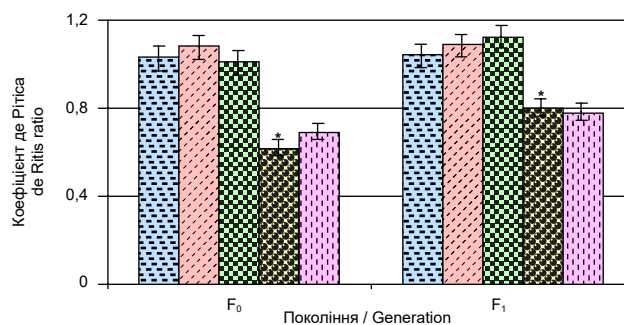


Рис. 3. Співвідношення АСТ/АЛТ (коефіцієнт де Рітиса) у сироватці крові щурів за дії гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Раундап»
Fig. 3. AST/ALT ratio (de Ritis coefficient) in the rats serum under the action of glyphosate-resistant genetically modified soybeans and "Roundup" herbicide

Примітка. У першому (F₀) поколінні: * — P≤0,01 порівняно з показниками щурів, які вживали необроблену гербіцидом трансгенну сою. У другому (F₁) поколінні: * — P≤0,001 порівняно з показниками щурів, які вживали необроблену гербіцидом трансгенну сою.
Note. In the first (F₀) generation: * — P≤0.01 compared to rats consuming untreated transgenic soybean. In the second (F₁) generation: * — P≤0.001 compared to rats consuming untreated transgenic soybean.

де Рітиса. Відомо, що його значення <1 свідчить про пошкодження клітин печінки, а підвищення >1,3 — переважно про «не печінкове» походження цього явища.

Аналіз результатів показав, що у IV групі щурів, які отримували оброблену «Раундапом» сою, і за умов моноведення цього гербіциду коефіцієнт де Рітиса залишався <0,8 (рис. 3), що вказує на вплив гербіциду на зміни функціонального стану печінки.

Отже, застосування генетично модифікованої сої, обробленої «Раундапом», негативно впливає на функціонування печінки у поколіннях F₀ та F₁, що виражається підвищенням активності амінотрансфераз у сироватці крові щурів. При цьому гіперферментемія спричинена більше дією гербіциду «Раундап», а транс-

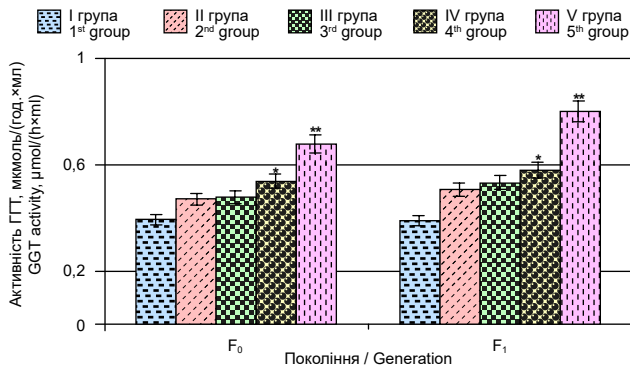


Рис. 4. γ-Глутамілтрансферазна активність у сироватці крові щурів за дії гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Раундап»

Fig. 4. γ-glutamyltransferase activity in the rats serum under the action of glyphosate-resistant genetically modified soybeans and "Roundup" herbicide

Примітка. У першому (F₀) поколінні: * — P≤0,01 порівняно з показниками щурів, які вживали необроблену гербіцидом трансгенну сою; ** — P≤0,001 порівняно з показниками щурів, які вживали оброблену гербіцидом трансгенну сою. У другому (F₁) поколінні: * — P≤0,05 порівняно з показниками щурів, які вживали необроблену гербіцидом трансгенну сою; ** — P≤0,001 порівняно з показниками щурів, які вживали оброблену гербіцидом трансгенну сою.

Note. In the first (F₀) generation: * — P≤0.01 compared to rats consuming untreated transgenic soybean; ** — P≤0.001 compared to rats that used herbicide-treated transgenic soybeans. In the second (F₁) generation: * — P≤0.05 compared to rats consuming untreated transgenic soybean; ** — P≤0.001 compared to rats that used herbicide-treated transgenic soybeans.

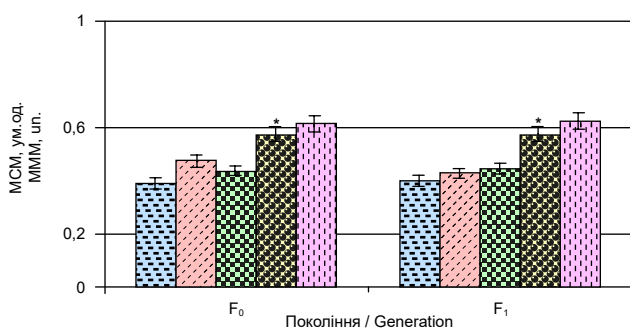


Рис. 5. Вміст молекул середньої маси (аліфатичні) у сироватці крові щурів за дії гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої та гербіциду «Раундап»

Fig. 5. The middle mass molecules content (aliphatic) in the rats serum under the action of glyphosate-resistant genetically modified soybeans and "Roundup" herbicide

Примітка. У першому (F₀) поколінні: * — P≤0,001 порівняно з показниками щурів, які вживали необроблену гербіцидом трансгенну сою. У другому (F₁) поколінні: * — P≤0,01 порівняно з показниками щурів, які вживали необроблену гербіцидом трансгенну сою.

Note. In the first (F₀) generation: * — P≤0.001 compared to rats consuming untreated transgenic soybean. In the second (F₁) generation: * — P≤0.01 compared to rats consuming untreated transgenic soybean.

генна соя лише підвищує його негативну дію, ймовірно, через зниження імунної системи тварин [11].

Результати досліджень показали, що у першому поколінні ферментативна активність ГТТ у сироватці крові найбільше підвищується за умов дії гербіциду — у 2,2 раза, і застосування дієти, збагаченої генетично модифікованою соєю, обробленою цим гербіцидом, — в 1,8 раза порівняно з контролем (рис. 4).

У наступному поколінні таке підвищення виражене ще більше: за дії «Раундапу» ферментативна активність ГТТ підвищується у 2,5 раза, за умов застосування трансгенної сої, обробленої гербіцидом, — у 2,1 раза порівняно з контролем. Збільшення ферментативної активності ГТТ у сироватці крові за дії гербіциду може бути зумовлене загальним посиленням вільнорадикальних процесів в організмі внаслідок інтенсивної генерації активних форм кисню (АФК). Оскільки первинними мішенями АФК є ліпіди плазматичних мембран, окислення останніх може призвести до порушення їхньої структури і функцій, внаслідок чого ензим виходить у кров'яне русло [3].

З іншого боку, застосування гліфосат-резистентної генетично модифікованої сої може призвести до розвитку синдрому ендогенної інтоксикації, внаслідок чого порушуватиметься не лише структурно-функціональний стан клітинних мембран і дискоординація метаболічних процесів, але й робота детоксикаційної системи печінки та екскреторна функція нирок [4].

Встановлено, що застосування традиційної та генетично модифікованої сої, не обробленої гербіцидом, не призводить до змін вмісту МСМ у сироватці крові щурів у двох досліджуваних поколіннях порівняно з показниками, виявленими у контрольній групі щурів. За вживання генетично модифікованої сої, обробленої гербіцидом, і за введення лише гербіциду у сироватці крові щурів першого покоління рівень МСМ підвищується в 1,5 та 1,6 раза відповідно порівняно з контролем. У другому поколінні тенденція до підвищення вмісту МСМ у сироватці крові залишається на такому рівні, який спостерігався і для першого покоління (рис. 5).

Підвищення вмісту МСМ у сироватці крові проявляє патогенетичний вплив за рахунок пригнічення еритропоезу, розвитку вторинної імунодепресії, порушення мембран клітин. МСМ можуть відкладатися у стінках мікросудин альтеративним способом, сприяючи тим самим порушенню гемодинаміки [4].

Висновки

Виявлена гіперферментемія амінотрансфераз та γ-глутамілтрансферази вираженіша у щурів F₀ та F₁ покоління, які споживали генетично модифіковану сою, оброблену гербіцидом «Раундап», або яким вводили гербіцид. Виявленні зміни провокують порушення функціонального стану печінки, прогресування синдрому ендогенної інтоксикації за рахунок підвищення вмісту

МСМ у сироватці крові. Порушення функціонального стану печінки може виражатися некрозом гепатоцитів, фрагментацією печінкових дольок та супроводжуватися виходом ензимів у кров'яне русло за умов пошкодження цього органа.

Перспективи подальших досліджень

Провести вивчення інших показників вуглеводного обміну — глюкози (сироватка), С-пептиду, лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази. Детально дослідити вплив вживання генетично модифікованої сої, обробленої гербіцидом, і самого гербіциду на показники ліпідного обміну — загальний холестерол, ліпопротеїди високої щільності, ліпопротеїди низької щільності, ліпопротеїди дуже низької щільності, тригліцериди. Необхідно дослідити вільнорадикальні процеси в організмі щурів, зокрема у клітинах печінки та нирок.

1. Dimov DM. Comparison of four methods for the estimation of γ -glutamyl transpeptidase activity in biological fluids. *Clin. Chim. Acta.* 1967; 16 (2): 271–277. DOI: 10.1016/0009-8981(67)90192-1.
2. Dolaychuk OP, Fedoruk RS, Kovalchuk II, Khrabko MI. Physiological influence of soybeans on native and transgenic varieties on the body of females of third generation rats. *Biol. Tvarin.* 2013; 15(3): 22–30. DOI: 10.15407/animbiol15.03.022. (in Ukrainian)
3. European convention for the protection of vertebrate animals used for experiments and other scientific purposes. Strasbourg, Council of Europe, 1986: 53.
4. Gabrielyan NI. Experience in using the index of average molecules in blood for the diagnosis of nephrology in children. *Lab. work.* 1984; 3: 138–140. (in Russian)
5. Ketsa OV, Marchenko MM. The effect of diet ratio of polyunsaturated fatty acids of ω -3 and ω -6 families on activity of aminotransferases and γ -glutamyltransferase in rat blood serum. *Quest. Nutr.*

- 2014; 83 (1): 27–32. Available at: https://www.voprosy-pitaniya.ru/ru/articles_diet/245.html?SSr=090134892f05ffffff27c_07e60207050911-5017 (in Russian)
6. Ketsa OV, Shmarakov IO, Marchenko MM. Lipid peroxidation in cardiac mitochondrial fraction of rats exposed to different supplementation with polyunsaturated fatty acids. *Biomed. Chem.* 2016; 62 (1): 50–55. DOI: 10.18097/PBMC20166201050. (in Russian)
7. Marchenko MM, Ketsa OV. Functional activity of the NADH-dependent reductase system in liver and Guerin's carcinoma microsomal fraction in rats exposed to preliminary irradiation. *Biochem. (Moscow) Suppl. B: Biomed. Chem.* 2012; 6: 322–328. DOI: 10.1134/S1990750812040063. (in Russian)
8. Natarajan S., Xu C, Bae H, Bailey BA, Cregan P, Caperna TJ, Garrett WM, Luthria D. Proteomic and genetic analysis of glycinin subunits of sixteen soybean genotypes. *Plant Physiol. Biochem.* 2007; 45 (6–7): 436–444. DOI: 10.1016/j.plaphy.2007.03.031.
9. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Pathol.* 1957; 28 (1): 56–63. DOI: 10.1093/ajcp/28.1.56.
10. Salyha NO, Snitynsky VV. Genetically modified plants and their influence on the organism of animals. *Biol. Tvarin.* 2010; 12 (2): 61–74. Available at: <http://archive.inenbiol.com.ua:8080/bt/101/5a.html> (in Ukrainian)
11. Samsomyuk I, Stronsky U. Activity of transaminases and alkaline phosphatase of serum of blood of rats of three generations, fed by genetically modified soybean. *Sci. messenger LNUVMBT S. Z. Gzhytsky. Vet. ser.* 2013; 15 (3/57); 2: 279–283. (in Ukrainian)
12. State Standard of Ukraine ISO 21569:2008. Methods of detection of genetically modified organisms and products with their content. Qualitative methods based on nucleic acid analysis. 2005, IDT. (in Ukrainian)
13. State Standard of Ukraine ISO 21570:2005. Food products. Methods of detecting genetically modified organisms and products with their content. Quantitative methods based on nucleic acid analysis. 2005, IDT. (in Ukrainian)
14. Szasz GA. New substrates for measuring gamma-glutamyl transpeptidase activity. *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 1974; 12 (5): 228. PMID: 4155184.
15. Vudmaska IV, Paranyak RP, Yanovych DO, Semenovych VK, Golubets RA. Quality and safety assessment of genetically modified organisms. *Biol. Tvarin.* 2007; 9 (1–2): 23–29. Available at: <http://archive.inenbiol.com.ua:8080/bt/0712/074a.html> (in Ukrainian)

Biochemical markers of the functional state of liver in blood serum of rats consuming glyphosate-resistant genetically modified soybean and herbicide "Roundup"

I. V. Chorna¹, G. V. Dronic², V. I. Kulish²
chorna8@ukr.net

¹Institute of Postgraduate Pedagogical Education of Chernivtsi region, 20 Ivana Franka str., Chernivtsi, 58002, Ukraine, tel. (+38 0372) 52-73-36

²Bukovynian State Agricultural Research Station, Institute of Agriculture of Carpathian Region NAAS, 21 Bohdana Kryzhanivskoho str., Chernivtsi, 58025, Ukraine, tel. (+38 0372) 52-92-20

The effect of glyphosate-resistant genetically modified soybean and herbicide "Roundup" on the enzymatic activity of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and γ -glutamyltransferase (GGT), and on the content of middle mass molecules in rat serum has been investigated. The studies were made on the Wistar rats divided into five groups: 1st group — intact; 2nd group — 25% of rat's ration was replaced by traditional soybean; 3rd group — the rats received feed containing genetically modified soybean not treated with the herbicide "Roundup"; 4th group — the rats received feed containing genetically modified soybean treated with the herbicide; 5th group — the rats received the herbicide "Roundup" with drinking water. After 42 days females of all groups were mated and continued to receive the same diet and herbicide with drinking water. In 22–24 days the next generation of rats was born. In the first and second generation of rats fed with the herbicide "Roundup" and transgenic soybean treated with this herbicide, the hyperenzymemia of ALT, AST and GGT in compared with control group was observed. At the same time, De Ritis Ratio was reduced to values of 0.8 and 0.7 for the rats fed with soybean "Roundup Ready" and herbicide, respectively. It is shown that the level of middle mass molecules in blood serum of the first rat generation increases in 1.5 and 1.6 times in cases of feeding rats with genetically modified soybean treated with herbicide and herbicide only; the increase in the content of middle mass molecules is observed in the second generation too. The increase of middle mass molecules content in blood serum indicates a syndrome of endogenous intoxication.

Key words: aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, γ -glutamyltransferase, middle mass molecules, herbicide "Roundup", genetically modified soybean, serum, liver



The influence of biologically active preparations on the reproductive qualities of sows

A. Pîrlog, A. Carapirea, G. Darie, E. Cibotaru, O. Chiselița

alisa.pirlog@gmail.com

State Agrarian University of Moldova,
42 Mircești str., Chișinău, MD-2049, Republic of Moldova

The work concerns the study of the reproductive qualities of sows that received, in addition to the main diet, a biologically active preparation (LB-AAP) synthesized from brewer's yeast waste. For this purpose, two groups of sows were formed, experimental and control ones containing 5 sows in each group. The preparation was administered in addition to the main diet 30 days before farrowing and 10 days after farrowing at 10 ml for each sow. It has been found out that the enrichment of rations for pregnant sows with a biologically active preparation (LB-AAP) allows an increase in the number of born piglets by 0.4 more than in the control group. There were 0.8–0.31 stillborn piglets in the experimental group or 1.0 less compared to the control group. Enrichment of the diets of sows 30 days before farrowing with a biologically active agent had a positive effect on the live weight of the litter at birth and on the 21st day. The average live weight of piglets in the litter of the experimental group was 0.85 kg higher than the average live weight of piglets in the litter of the control group. The average live weight of one piglet at birth in the experimental group was 1.7 kg, and in the control group was 1.4 kg, which is 0.3 kg less. Hematological and biochemical blood tests were studied at the beginning and at the end of the experiment, as well as the amino acid, macro and microelement composition of the preparation.

Key words: piglets, live weight, LB-AAP-preparation, blood, amino acids, macro- and microelements

The reproductive qualities of sows are significantly influenced by the level and completeness of feeding. Many scientists believe that the feeding of sows should be differentiated in accordance with their physiological state [3]. The influence of the nutritional value of feeding on the reproductive qualities of sows has not been sufficiently studied.

The use of biologically active preparations is a modern and effective way to stimulate the functional reserves of the body, allowing to increase the productivity of animals [4, 7].

When choosing biologically active preparations, the determining factor is primarily environmental safety and economic efficiency. These requirements are met by biologically active preparations obtained from the waste of beer, wine and other yeast.

The reproductive qualities of sows largely depend on a balanced diet. Therefore, in obtaining, maintaining and raising healthy piglets, full-fledged feeding of sows during gestation and lactation periods plays an

important role. But the main feed used in feeding pigs does not satisfy their need for certain substances, therefore it is necessary to introduce various sources of biologically active substances into their diet [1, 8, 5, 10, 6].

The researches by [2, 9] showed that the addition of biologically active substances to the main diet can stimulate the growth of animals and intensify physiological processes in the body.

At the same time, in a number of countries with highly developed pig breeding, approaches to the peculiarities of feeding sows differ. In feeding pregnant sows, it is proposed to distinguish five stages, differing in the amount of feed given to the animals, others suggest differentiating the feeding of sows by three periods of gestation, but without dramatically changing the composition of the feed mixture. Judging by the existing recommendations, the norms of protein and amino acid nutrition of these animals differ very much.

The purpose of our work was to study the biochemical parameters and biological properties of preparations synthesized from brewer's yeast waste for reproductive and productive qualities of sows.

Materials and Methods

The experimental work was carried out on the reproducer of the pig-breeding complex "Agroseminvest" Ltd. (Burlacheni village, Cahul region, the Republic of Moldova) and in the biology laboratory of embryos reproduction and transplantation of the Moldavian Scientific and Practical Institute of Biotechnology in Animal Husbandry and Veterinary Medicine of the Republic of Moldova. In laboratory conditions, biologically active preparations were synthesized from brewer's yeast — *LB-h* mg/100 ml, *LB-AAP* mg/100 ml, *LB-MP* mg/100 ml, *LB-GL* mg/g. The amino acid, macro and microelement composition of these preparations was investigated. In production experiments, the preparation *LB-AAP* was tested.

The experiments used pregnant sows one month before the expected farrowing. Two groups of sows were formed — experimental and control, five sows in each group. Each sow of the experimental group in addition to the main diet 30 days before farrowing and 10 days after farrowing received 10 ml of preparation (*LB-AAP*), developed by the Institute of Microbiology and Biotechnology of the Republic of Moldova.

At the beginning and at the end of the experiment, blood samples were taken to study the hematological and biochemical composition. In the postnatal period the average number of piglets born in each litter, their average live weight, as well as the average live weight of the nest on the 21st day were studied.

Results and Discussion

To implement the tasks set at the first stage, the amino acid composition in the obtained preparations was studied. The data presented in table 1 indicate that the preparation *LB-AAP* was the richest in amino acids.

The following studies were aimed at studying the content of macro and microelement composition obtained from brewer's yeast waste. The experimental data are presented in table 2. The analysis of these data shows that the highest indicators of macroelement and microelement composition were also shown by the preparation *LB-AAP*.

The intensive use of high-value breeding animals in order to obtain the highest-value offspring depends on the physical condition of the animal's body. For this purpose, we studied the hematological and biochemical parameters of the blood. The experimental data are shown in table 3.

Table 1. Amino acid composition of the preparation

Amino acids	Preparation			
	<i>LB-h</i> , mg/100 ml	<i>LB-AAP</i> , mg/100 ml	<i>LB-MP</i> , mg/100 ml	<i>LB-GL</i> , mg/g
Cysteic acid	1.73	12.2	0.37	–
Aspartic acid	16.31	368.5	4.77	1.93
Threonine	11.62	375	5.47	0.42
Serine	6.60	304.3	2.23	0.22
Glutamic acid	81.66	1214.3	13.19	4.03
Proline	32.58	559.2	6.68	3.17
Glycine	21.33	529.2	3.68	1.86
Alanin	17.28	488.7	2.84	1.12
Valine	9.27	306.3	3.32	1.38
Cysteine	1.20	22.6	0.11	0.08
Methionine	1.44	23.7	0.11	0.09
Isoleucine	5.72	301.9	1.88	0.73
Leucine	17.25	688.5	4.07	2.16
Tyrosine	7.87	35.6	0.30	0.23
Phenylalanine	9.81	308	2.62	0.93
Lysine	9.01	368	3.82	1.11
Histidine	4.14	59	0.78	0.22
Arginine	6.81	268.8	1.57	0.79
γ -aminobutyric acid	5.02	70.3	0.52	0.04
Ornithine	0.89	75.7	1.99	–
Σ nonessential amino acids	184.82	3522.4	33.80	12.65
Σ essential amino acids	75.05	2699.2	23.64	7.83
Σ immunoactive amino acids	148.95	3150	32.45	9.23
Σ glycolytic amino acids	82.40	2372.1	22.32	6.94
Σ ketogenic amino acids	49.64	1702	12.68	5.17
Σ proteinogenic amino acids	259.87	6221.6	57.43	20.48
Σ amino acids containing S	4.36	58.4	0.60	0.17

Table 2. Macro- and microelements composition in preparations (M±m)

Macro- / microelement	Preparation			
	LB-h, mg/100 ml	LB-AAP, mg/100 ml	LB-MP, mg/100 ml	LB-GL, mg/g
Macroelements, mg/ml				
K	1.2± ±0.001	≥2	0.1± ±0.004	0.05± ±0.004
P	0.4± ±0.009	3.8± ±0.007	0.8± ±0.04	1.4± ±0.06
Na	0.09± ±0.0007	1.8± ±0.02	3.4± ±0.1	1.3± ±0.005
Mg	0.06± ±0.0009	0.2± ±0.001	0.02± ±0.001	0.1± ±0.002
Ca	0.01± ±0.0001	0.01± ±0.007	0.005± ±0.0004	0.4± ±0.006
Microelements, mcg / ml				
Fe	3.3± ±0.007	2.8± ±0.001	0.01± ±0.0005	0.3± ±0.002
Al	1.6± ±0.001	3.3± ±0.02	18.0± ±0.07	0.3± ±0.002
Mn	0.07± ±0.0001	1.0± ±0.003	0.06± ±0.003	0.003± ±0.0001
Cu	0.06± ±0.003	0.3± ±0.003	0.1± ±0.01	0.009± ±0.0002
Cr	0.04± ±0.001	0.08± ±0.002	0.1± ±0.01	0.003± ±0.0001
Mo	0.02± ±0.001	0.08± ±0.001	0.03± ±0.003	0.004± ±0.0001
Ni	0.01± ±0.0003	0.2± ±0.002	0.02± ±0.0002	0.005± ±0.0002
Co	0.003± ±0.0002	0.02± ±0.0005	0.004± ±0.0003	–
Zn	–	1.3± ±0.004	0.03± ±0.003	0.06± ±0.002
Se	–	–	0.03± ±0.008	–
Sr	0.1± ±0.005	0.2± ±0.002	0.1± ±0.005	0.004± ±0.0004
Pb	–	–	–	–
Tl	–	0.002± ±0.0009	0.02± ±0.0005	–
Ag	0.01± ±0.007	0.02± ±0.001	0.03± ±0.002	–
Ba	–	–	0.04± ±0.001	0.002± ±0.0001
Bi	0.02± ±0.005	0.008± ±0.00001	0.01± ±0.0002	–
Hg	0.01± ±0.007	0.02± ±0.003	0.04± ±0.001	–
Sb	0.02± ±0.001	0.008± ±0.0006	0.01± ±0.003	–
Li	0.01± ±0.0003	0.01± ±0.0001	–	–

Table 3. Hematological analysis of the blood of sows (M±m)

Indicators	Groups			
	Experimental (n=5)		Control (n=5)	
	Stage of the experiment			
	Beginning	End	Beginning	End
Leukocytes, 10 ⁹ /l	13.66± ±1.91	18.6± ±0.23	15.27± ±1.98	18± ±1.52
Lymphocytes, 10 ⁹ /l	7.53± ±0.68	6.16± ±0.15	7.83± ±0.50	5.8± ±0.10
Erythrocytes, 10 ¹² /l	8.23± ±1.43	6.06± ±0.24	6.97± ±0.13	6.65± ±0.19
Hemoglobin, g/l	198± ±26.21	121.25± ±4.25	165.25± ±32.01	126± ±4.42
Platelets, 10 ⁹ /l	122.4± ±42.86	280.4± ±40.55	166.8± ±43.86	215± ±41.08
Erythrocyte sedimentation rate, mm/hour	13.2± ±5.16	7.4± ±4.10	10.8± ±5.21	4.6± ±1.52

The data presented in tables 3 and 4 show that both at the beginning of the experiment and at the end of the experiment, all the studied blood parameters are within physiological norms. It should be noted that the level of platelets increased in both the experimental and control groups.

Table 4. Biochemical analysis of the blood of sows (M±m)

Indicators	Groups			
	Experimental (n=5)		Control (n=5)	
	Stage of the experiment			
	Beginning	End	Beginning	End
Albumin, g/l	41.60± ±2.39	40.10± ±2.08	42.53± ±2.78	35.63± ±1.46
ALT-AMP, U/l	62.33± ±3.18	38.33± ±4.31	103.33± ±9.93	58.00± ±3.12
Calcium, mmol/l	3.39± ±0.02	2.56± ±0.05	2.47± ±0.05	3.46± ±0.04
Cholesterol, mmol/l	2.30± ±0.18	1.94± ±0.11	2.15± ±0.14	1.94± ±0.33
Glucose, mmol/l	3.60± ±0.13	4.42± ±0.17	4.43± ±0.28	3.77± ±0.44
Magnesium, mmol/l	0.73± ±0.02	1.02± ±0.01	0.64± ±0.02	1.46± ±0.02
Triglyceride, mmol/l	0.31± ±0.05	0.05± ±0.04	0.54± ±0.06	0.23± ±0.05
Urea, mmol/l	5.30± ±0.43	3.68± ±0.50	5.43± ±0.49	3.96± ±0.58

It was also found out that the level of triglycerides, the main source of energy in the body, was reduced by more than two times in comparison with the level established at the beginning of the experiment. As for the dynamics of glucose levels, it should be noted that although this indicator has increased, it remains within the physiological limits. The level of erythrocytes and hemoglobin is within normal limits, the erythrocyte sedimentation rate decreased and amounted to 7.4 ± 4.1 ml/hour. This is an indicator of inflammatory processes, since the level of leukocytes and the data of the leukocyte formula are within the normal range. In this case, an increase in erythrocyte sedimentation rate is associated with high cholesterol levels. The data are statistically not significant.

The influence of biologically active preparations on the reproductive functions of sows was studied. The experimental data on the number of piglets obtained from sows are presented in table 5.

Table 5. Number of alive piglets, stillbirths and survivors on the 21st day according to feed ration

Litter nr.	Control group (CG), n				Experimental group (EG), n			
	At birth		In 21 days		At birth		In 21 days	
	alive	dead	alive	dead	alive	dead	alive	dead
1	11	2	11	0	15	3	15	0
2	9	2	9	0	7	2	7	0
3	11	0	10	1	16	3	16	0
4	12	3	12	0	4	1	4	0
5	11	6	10	1	14	0	14	0
Average	10.8 ± 0.5	2.6 ± 0.9	10.4 ± 0.4	2	11.2 ± 1.96	1.8 ± 0.6	11.2 ± 1.96	0

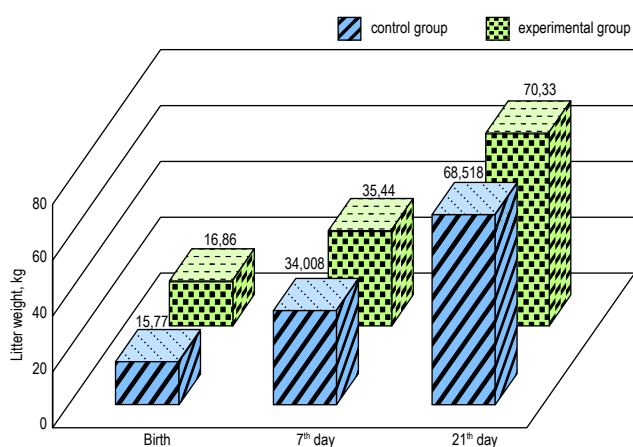


Fig. Litter weight at birth, on the 7th and 21st days depending on the ration

The data presented in table 5 show that the number of piglets born in the experimental group averaged 11.2 or 0.4 more than the average of the control group. The number of stillborn piglets obtained in the experimental group averaged 1.8 ± 0.6 or 0.8 less than in the control group.

The data presented in fig. show that enriching the diets of sows 30 days before farrowing and 10 days after farrowing with *LB-AAP* has a positive effect on the average live weight of piglets on the 21st day after farrowing, and the data are statistically inauthentic. The average live weight of piglets on the 21st day in the experimental group was 1.812 kg higher than in the control group.

Conclusions

1. Of the studied preparations, the highest indicators of the content of amino acids (Glutamic acid — 1214.3 mg/100 ml; Leucine — 688.5 mg/100 ml; Proline — 559.2 mg/100 ml, etc.), macroelements (K — ≥ 2 mg/ml; P — 3.8 mg/ml; Na — 1.8 mg/ml), and microelements (Fe — 2.8 mg/ml; Al — 3.3 mg/ml; Mn — 1.0 mg/ml) were registered in the preparation *LB-AAP*.

2. Introduction to the main diet of sows 30 days before farrowing and 10 days after farrowing of a biologically active preparation *LB-AAP* made it possible to obtain the highest fertility rates of live piglets (11.2 ± 1.96), to reduce the number of stillborn piglets (0.8), increase the litter live weight at 21 days by (1.81 kg) in the experimental group compared with the control.

- Alekseev VA. Technology of procurement and processing of feed. Livestock system of the Chuvash Republic, Cheboksary, 1996: 5–29. (in Russian)
- Andreeva NA. Application of the “Permail” preparation for fattening young pigs. *Tr. ChGSKhA*, Cheboksary, 2001; 15: 133. (in Russian)
- Ard Van Emkward. The purpose of feeding is more milk. *Agricultural Bulletin*, 2002; 2: 16–18.
- Bohireva LA. Biotechnological methods of increasing the reproductive function of sows. *Sat. Sci. Tr. Kuban GAU*, 1996; 4: 102–105.
- Britt H. Improving sow productivity through lactation gerent during gestation, lactation and after weaning. *J. Anim. Sci.* 1986; 63 (4): 1288–1296. DOI: 10.2527/jas1986.6341288x.
- Darie G, Harea V, Marandici E, Darie I. *Reproduction of pigs*. Chişinău, 2010, 235 p.
- Kononov VP. The state and prospects for the development of pig breeding in the XXI century. *Pig breeding*, 2000: 20–23.
- Kokorev VA. *Biological substantiation of the needs of pregnant sows in microelements*. Saransk, 1990: 172 p.
- Lavrentev AY. Digestibility of dietary nutrients when using the zeolite-containing preparation “Permail” in feeding young pigs. *Tr. ChGSKhA*, Cheboksary, 2001; 15: 150.
- Yarov II, Kalnikova ET, Vasyutenkova NS. The need of pregnant sows for energy, protein and amino acids. *Agricultural biology of animals*. Moscow, 1983: 336. (in Russian)

Вплив біологічно активних препаратів на репродуктивні якості свиноматок

А. Пирлог, А. Карапіреа, Г. Даріє, Е. Чіботару, О. Кіселіца
alisa.pirlog@gmail.com

Державний аграрний університет Молдови,
вул. Мірчешти, 42, Кишинів, MD-2049, Республіка Молдова

Робота присвячена вивченню репродуктивних якостей свиноматок, які, крім основної дієти, отримували біологічно активний препарат (LB-AAP), синтезований з пивних дріжджових відходів. З цією метою сформували дві групи свиноматок — експериментальну та контрольну по 5 тварин у кожній групі. Препарат вводили по 10 мл на додаток до основної дієти свиноматок за 30 днів до опоросу і через 10 днів після опоросу. Таке введення дозволяє збільшити потомство на 0,4 поросят порівняно з контрольною групою. В експериментальній групі було 0,8–0,31 мертвонароджених поросят проти 1,0 у контролі. Збагачення дієт свиноматок за 30 днів до опоросу біологічно активним агентом позитивно вплинуло на живу масу гнізда при народженні і на 21-й день. Середня жива маса поросят у гнізді експериментальної групи на 0,85 кг перевищувала живу масу поросят у гнізді контрольної групи. Середня жива маса одного поросяти при народженні в експериментальній групі становила 1,7 кг, а в контрольній групі — 1,4 кг, що на 0,3 кг менше. На початку і наприкінці експерименту було досліджено гематологічні та біохімічні показники крові, а також амінокислотний склад, макро- та мікрелементну композицію препарату.

Ключові слова: поросята, жива маса, LB-AAP-препарат, кров, амінокислоти, макро- та мікроелементи



Стан системи антиоксидантного захисту у риб *Danio rerio* за інтоксикації хлорпірифосом

В. В. Довганюк, В. П. Росаловський, Ю. Т. Салига

ros.volodymyr@gmail.com

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

Представлені результати досліджень впливу гострої інтоксикації хлорпірифосом (ХПФ) риб *Danio rerio* у концентраціях 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л акваріумної води впродовж 24 год. на вміст ТБК-активних продуктів активність каталази (КАТ), супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГПО), глутатіонредуктази (ГР) у їхніх тканинах. Через 24 год. перебування риб у воді із внесеним ХПФ у концентраціях 0,75 мг/л та 1 мг/л у досліджуваних тканинах виявили зростання вмісту ТБК-активних продуктів порівняно до контрольних значень. Встановлено лінійний характер зростання ензиматичної активності КАТ у тканинах голови і тулуба риб унаслідок впливу ХПФ у дозах 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л. На тлі зростання каталазної активності у *Danio rerio* через 24 год. після дії токсиканта виявлено обернено пропорційну залежність між дозою ХПФ та активністю ГПО обидвох досліджуваних відділів тіла риб. У тканинах голови і тулуба встановлено інгібування активності СОД за дії ХПФ. Активність цього ензиму була найнижчою за дії ХПФ у концентрації 0,75 мг/л. Отримані результати доповнюють дані стосовно токсичної дії ХПФ на іхтіофауну і зокрема на перебіг ХПФ-індукованого оксидативного стресу у риб *Danio rerio*. Отримані дані можуть бути використані в обґрунтуванні розроблення додаткових біохімічних маркерів інтоксикацій тварин ХПФ та іншими фосфорорганічними сполуками (ФОС) під час проведення токсикологічних та екологічних експериментів, враховуючи, що інтенсивність застосування інсектицидних препаратів у сільськогосподарському виробництві та побуті зростає.

Ключові слова: *Danio rerio*, хлорпірифос, інтоксикація, антиоксидантна система, оксидативний стрес, ензими, холінестераза

Застосування пестицидів — важливий фактор у забезпеченні високої врожайності сільськогосподарських і технічних культур впродовж десятиліть. Проте постійне зростання потреби в аграрній продукції нерідко призводить до надмірного використання різноманітних агрохімічних препаратів, які, крім своїх основних функцій, часто становлять екологічні загрози та шкідливо впливають на здоров'я тварин і людей. Пестициди, у яких діючою речовиною є фосфоорганічні сполуки (ФОС), — особливо небезпечні через високий рівень токсичності. Незважаючи на це, масштаби їх використання у багатьох країнах світу залишаються значними, а в країнах, що розвиваються, зокрема Індії і Китаї, — збільшуються з одночасним нарощуванням виробництва фосфорорганічних пестицидів [17, 20]. Україна належить до країн із високим рівнем застосування пестицидів на основі ФОС. Зокрема, з 248 інсектицидних препа-

ратів, дозволених для використання у нашій країні, 37 містять хлорпірифос (ХПФ) — фосфорорганічну сполуку широкого спектру дії, яку застосовують для обробки зернових, плодоовочевих, садових культур, складських приміщень, тваринницьких ферм тощо [13, 20, 23, 25, 26]. За інтенсивного застосування у сільському господарстві ХПФ-вмісних агрохімічних засобів внаслідок дії природних процесів (опадів, вітрів, ерозії ґрунтів тощо) ХПФ може потрапляти до відкритих водойм і впливати там на нецільові організми, зокрема іхтіофауну [10, 16]. У літературі описано вплив ХПФ на двостулкових молюсків, прісноводних равликів [10] та коропа звичайного [32], карася золотистого, тиліпію нільську [6], інші види безхребетних і риб. З іншого боку, здатність ХПФ до біоаккумуляції в різних частинах тіла промислових риб [14] може спричинити потенційні ризики для здоров'я людей.

Основний механізм біологічної дії ХПФ, як і інших представників ФОС, полягає у фосфорилуванні ацетилхолінестерази, що спричиняє втрату активності цього ензиму [30]. Саме тому діагностика гострого отруєння ХПФ ґрунтується на оцінці вираженості холінергічного синдрому — сукупності симптомів, обумовлених стимуляцією мускаринових і нікотинових рецепторів надлишком ацетилхоліну чи екзогенних сполук, здатних стимулювати парасимпатичну нервову систему. Водночас важливо зазначити, що поряд із антихолінестеразною дією ХПФ відомо про низку інших біохімічних і фізіологічних процесів, які також безпосередньо залучені у механізми токсичності цієї сполуки [30]. У наших попередніх роботах, а також дослідженнях багатьох вчених інших країн доведено, що за потрапляння до організму ссавців та інших класів ХПФ спричиняє порушення про-антиоксидантної рівноваги, провокуючи оксидативний стрес [22, 24, 30].

У низці досліджень показано, що дія ХПФ на водні організми супроводжується мутагенним та генотоксичними, гістопатологічними, ендокринними ефектами, порушенням локомоторної активності та виникненням оксидативного стресу [3, 8, 29]. Як відомо, оксидативний стрес є наслідком дисбалансу між антиоксидантами та прооксидантами. Гіперпродукція активних форм оксигену (АФО), надмірне утворення синглетного кисню, супероксид-аніон-радикалу, гідроген пероксиду спричиняє посилене окисне пошкодження клітинних структур [23, 25]. Внаслідок посиленого утворення прооксидантів може змінюватись активність ензимів системи антиоксидантного захисту і змінюватись вміст маркерів оксидативного стресу в клітинах. Водночас варто зазначити, що характер оксидативного стресу, зміни його ключових ензиматичних показників, описані у згаданих вище та інших роботах, не завжди однозначні, а в певних випадках мають суперечливий характер.

Danio rerio надійно утвердилася як успішна модель для досліджень у багатьох галузях біології, зокрема токсикології. Саме цей вид риб є модельним організмом для оцінки якості води за стандартами OECD та ISO [28]. Невисока порівняно з іншими видами лабораторних тварин вартість робіт і можливість формування великої вибірки риб дозволяє використовувати *Danio rerio* як ефективну біологічну модель [7, 11].

З огляду на вищесказане, метою цього дослідження було з'ясувати вплив 24-годинної інтоксикації риб *Danio rerio* ХПФ на стан окремих компонентів системи їх антиоксидантного захисту за умов внесення досліджуваної сполуки до акваріумної води.

Матеріали і методи

Для досліджень використовували ХПФ (CAS №2921-88-2) (О,О-діетил-О3,5,6-трихлор-2-піридил-фосфоротіоат, CH₁₁Cl₃NO₃PS) корпорації *Sigma Chemical* (США). Дослідження виконані в Інституті

біології тварин НААН на акваріумних рибах *Danio rerio* дикого типу. Усі маніпуляції з рибами здійснювали відповідно до Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» від 18.03.1986 р., Директиви ЄС №609 від 24.11.1986 р. і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики у Києві 2001 р.

Дослідних риб *D. rerio* утримували у скляних акваріумах об'ємом 20 л, обладнаних автоматизованими системами освітлення у режимі перемикання 14 год. світло/10 год. темрява, аерації, нагріву та фільтрування води. Фізико-хімічні параметри акваріумної води підтримували у такому діапазоні значень: температура (t) — +26...+28°C, кислотність (рН) — 7. Значення рН акваріумної води перевіряли щодня і підтримували на стабільному рівні, за необхідності додаючи у воду бікарбонат натрію. Варто наголосити, що важливість кислотності води в експериментах з вивчення токсичності внесеного у неї ХПФ критично важлива з огляду на те, що період напіврозпаду фосфорорганічних пестицидів у водних розчинах суттєво залежить від рівня рН. За проведення усіх експериментів обов'язково здійснювали контроль акваріумної води щодо вмісту в ній нітратів.

Годували риб двічі на добу в один і той самий час стандартним збалансованим сухим кормом, щоб уникнути можливих артефактів у досліджуваних показниках.

Відбір крові у риб *D. rerio* проводили, як описано у [1]. Відібрану кров з метою відділення формених елементів від плазми центрифугували впродовж 15 хв. при 13700 g за температури +4°C. Отриману плазму використовували для дослідження активності холінестерази. Вміст ТБК-активних продуктів визначали за [15]. У гомогенатах тканин тулуба та голови риб визначали каталазу (КАТ) [12], супероксиддисмутазу (СОД) [5], глутатіонредуктазу (ГР) [2] і глутатіонпероксидазу (ГПО) [18] активності.

Отримані результати статистично опрацьовували за допомогою комп'ютерного пакета програм *OriginPro 8.5 (Microcal, США)* з використанням *t*-критерію Стьюдента. Вірогідно відмінними вважали результати за $P < 0,05$.

Результати й обговорення

Для ХПФ, як і для всіх інших ФОС, характерним є інгібування холінестеразної (ХЕ) активності, що відбувається через фосфорилування активного центру ензиму ХЕ з утворенням так званої фосфорилізованої ХЕ (ХЕ + залишок ФОС, що містить фосфор у вигляді залишку фосфорної кислоти), яка втрачає здатність гідролізувати ацетилхолін і відновлює свою активність дуже повільно. Варто зазначити, що окремі метаболіти ХПФ також здатні спричинити інактивацію ХЕ.

Унаслідок інгібування активності холінестерази в організмі відбувається накопичення медіатора нервової системи — ацетилхоліну, що призводить до порушення передачі нервового збудження через гангліонарні синапси. Активність ХЕ є загальноприйнятим основним індикаторним показником ступеня інтоксикації організму ФОС, зокрема ХПФ. Тому визначали активність цього ензиму у плазмі крові риб *Danio rerio* за кожної застосовуваної у роботі дози токсиканта.

За дії ХПФ у плазмі крові *Danio rerio* виявлено лінійний характер зниження холінестеразної активності порівняно з показниками контрольної групи (рис. 1). За дії ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л виявлено зниження активності вказаного ензиму порівняно з контрольними значеннями на 74,8%, 89% та 91% відповідно ($P < 0,05$).

Останні дослідження неодноразово довели, що в процесі метаболізму ФОС утворюються речовини, які спричиняють посилене утворення АФО — високо-реакційноздатних сполук, що мають у своєму складі один або більше неспарених електронів. АФО викликають про-антиоксидантний дисбаланс у клітинах, спричиняють перекисне окислення ліпідів клітинних мембран, чим порушують їхню цілісність та сприяють посиленій деструкції [9, 15, 16].

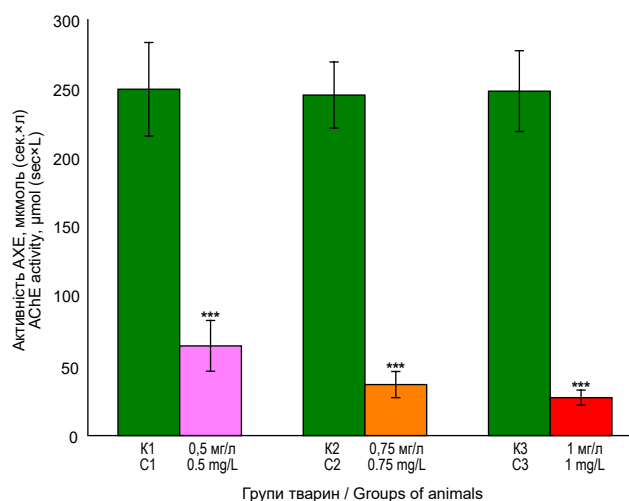
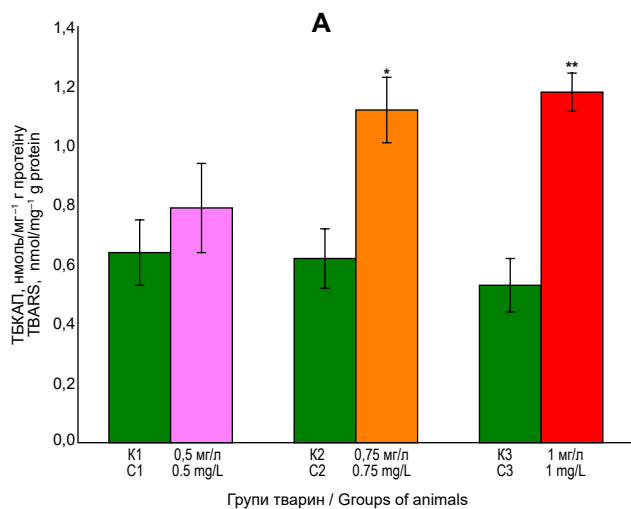


Рис. 1. Активність АХЕ в крові риб *Danio rerio* через 24 год. після інтоксикації ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л
Fig. 1. AChE activity in the blood of *Danio rerio* fish 24 h after CPF intoxication at concentrations of 0.5 mg/L; 0.75 mg/L and 1 mg/L

Через 24 год. після інтоксикації ХПФ у концентраціях 0,75 та 1 мг/л у досліджуваних тканинах риб *Danio rerio* виявлено вірогідне зростання вмісту ТБК-активних продуктів (рис. 2).

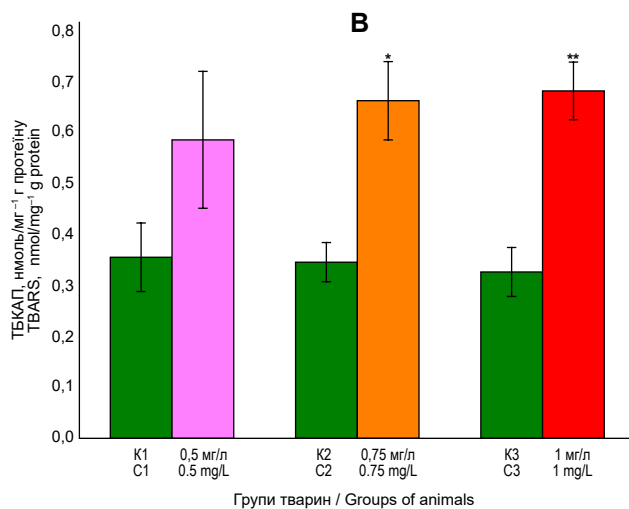


Рис. 2. Вміст ТБК-активних продуктів гомогенатах тканин головного (А) та тулубового відділу тіла (В) риб *Danio rerio* через 24 год. після інтоксикації ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л
Fig. 2. TBARS content in the tissue homogenates of the head (A) and torso section (B) of *Danio rerio* fish 24 h after CPF intoxication at concentrations of 0.5 mg/L; 0.75 mg/L and 1 mg/L

Встановлено, що в гомогенатах тканин голови риб вміст ТБК-активних продуктів зростав на 43,6 та 86,4%, натомість у тканинах тулуба риб досліджуваного показник збільшувався на 75 та 84,3% за дії ХПФ у концентраціях 0,75 мг/л та 1 мг/л відповідно ($P < 0,05$). Зростання вмісту кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів — ТБК-активних продуктів свідчить про посилення прооксидантних процесів в організмі риб через 24 год. за дії зазначених доз ХПФ. Посилене утворення ТБК-активних продуктів є наслідком

активізації процесів ПОЛ і розглядається як один із біологічних маркерів оксидативного стресу [19, 31].

Активність окремих ензимів системи антиоксидантного захисту може застосовуватись як індикатор виникнення оксидативного стресу. Насамперед це стосується КАТ та СОД, які забезпечують протидію клітин оксидативному стресу [4, 15, 32]. За дії ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л, 0,75 мг/л та 1 мг/л у риб виявлено вірогідне зростання каталазної активності в гомогенатах тканин голови і тулуба (рис. 3).

У тканинах голови риб встановлено збільшення активності цього ензиму на 35,5%, 43,9% та 60,2%, натомість у тканинах тулуба виявлено зростання каталазної активності, відповідно, на 19%, 21,7% і 34,6% прямо пропорційно до застосованої дози хлорпірифосу ($P < 0,05$). Зростання каталазної активності у риб можна розглядати як адаптаційну відповідь організму на посилення прооксидантних процесів, оскільки КАТ здійснює гетероциклічне розщеплення О-О зв'язку молекули H_2O_2 — токсичного для клітин продукту утилізації молекулярного Оксигену.

Супероксид-аніон-радикал є попередником кількох інших сполук з вільнорадикальними властивостями, тому ензиматичний контроль його концентрації в клітині супероксиддисмутазою є важливим регулятором інтенсивності оксидативного стресу в організмі [4, 20].

СОД як один з ключових ензимів антиоксидантної системи організму здійснює реакцію дисмутації супероксидних аніон-радикалів і перетворює їх на молекули гідрогену пероксиду, які є менш реакційно здатними.

У нашому дослідженні встановлено, що інтоксикація риб ХПФ викликала нелінійний характер зниження супероксиддисмутазної активності у тканинах *Danio rerio* (рис. 4). У гомогенатах тканин голови виявлено зниження активності СОД на 60,2%, 68,6% та 26,1% відповідно порівняно з контрольними значеннями ($P < 0,05$). У гомогенатах тканин тулуба риб найістотніше інгібування активності СОД виявлено за дії ХПФ у дозі 0,75 мг/л — на 71,7% і 68,2% за дози токсиканта 1 мг/л порівняно з контролем.

Аналізуючи отримані результати, зазначимо, що вони корелюють із даними роботи [15], автори якої описують

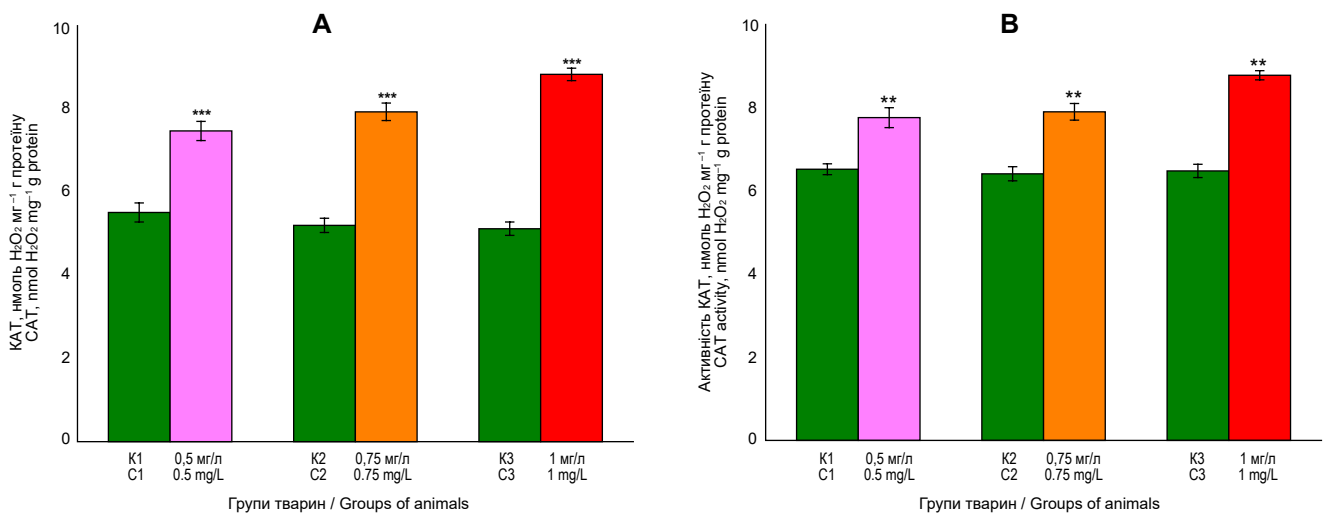


Рис. 3. Активність КАТ у гомогенатах тканин головного (А) і тулубового відділів (В) риб *Danio rerio* через 24 год. після інтоксикації ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л
Fig. 3. CAT activity in homogenates of tissues of the head (A) and torso section (B) of *Danio rerio* fish 24 h after CPF intoxication at concentrations of 0.5 mg/L; 0.75 mg/L and 1 mg/L

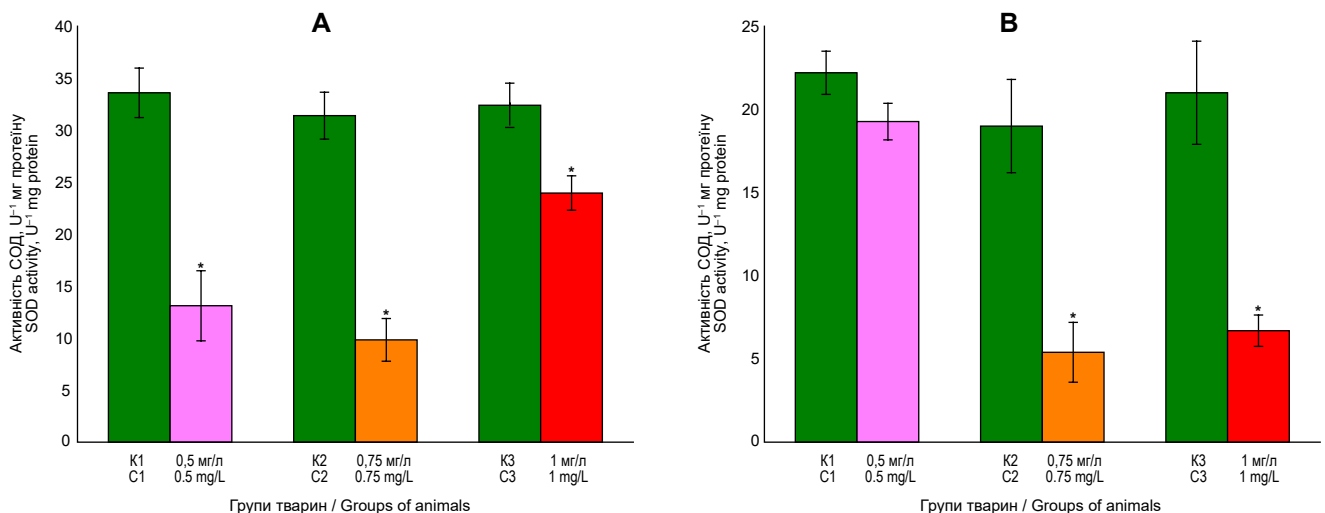


Рис. 4. Активність СОД у гомогенатах тканин головного (А) та тулубового відділів (В) риб *Danio rerio* через 24 год. після інтоксикації ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л
Fig. 4. SOD activity in homogenates of tissues of the head (A) and torso section (B) of *Danio rerio* fish 24 h after CPF intoxication at concentrations of 0.5 mg/L; 0.75 mg/L and 1 mg/L

зростання активності КАТ на тлі зниження активності СОД у гігантської годеї (*Goodea atripinnis*) за умов забруднення водойм промисловими стоками. Порушенням структури СОД у риб згадані автори пов'язують з інгибуванням синтезу СОД надмірною кількістю утворених АФО. З іншого боку [4], надмірне утворення супероксид-аніон радикалу спричиняє окислення цистеїну в молекулі СОД, що спричиняє інактивацію цього ензиму.

Показано, що застосування ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л, 0,75 мг/л та 1 мг/л призводило до зниження активності ГПО на 56,9%, 52,6% та 78,4% у гомогенатах тканин голови та зниження глутатіонпероксидазної активності цього ензиму на 14,5%, 25,1% та 40,7% відповідно порівняно з контролем ($P < 0,05$) (рис. 5).

Ймовірно, що зниження активності ГПО за дії ХПФ спричинене зниженням пулу внутрішньоклітин-

ного GSH. З іншого боку, накопичення токсичних для риб метаболітів, зокрема кетонів та альдегідів, може спричинити порушення структури цього ензиму [21].

ГР здійснює відновлення дисульфідного зв'язку в молекулі окисленого глутатіону (GSSG) до його сульфгідрильної форми GSH. Аналіз активності ГР у тканинах риб (рис. 6) показав відсутність лінійного характеру зниження цього ензиму, проте у гомогенатах голови риб активність ГР зростала після інтоксикації ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л на 107%, 67,1% та в 1,3 раза відповідно порівняно з контрольними значеннями відповідних груп. У тканинах тулуба зафіксували зростання активності ГР на 86,2% за дії ХПФ у концентрації 0,5 мг/л, в 1,6 раза — у концентрації 0,75 мг/л та 1,3 раза — у концентрації 1 мг/л ($P < 0,05$).

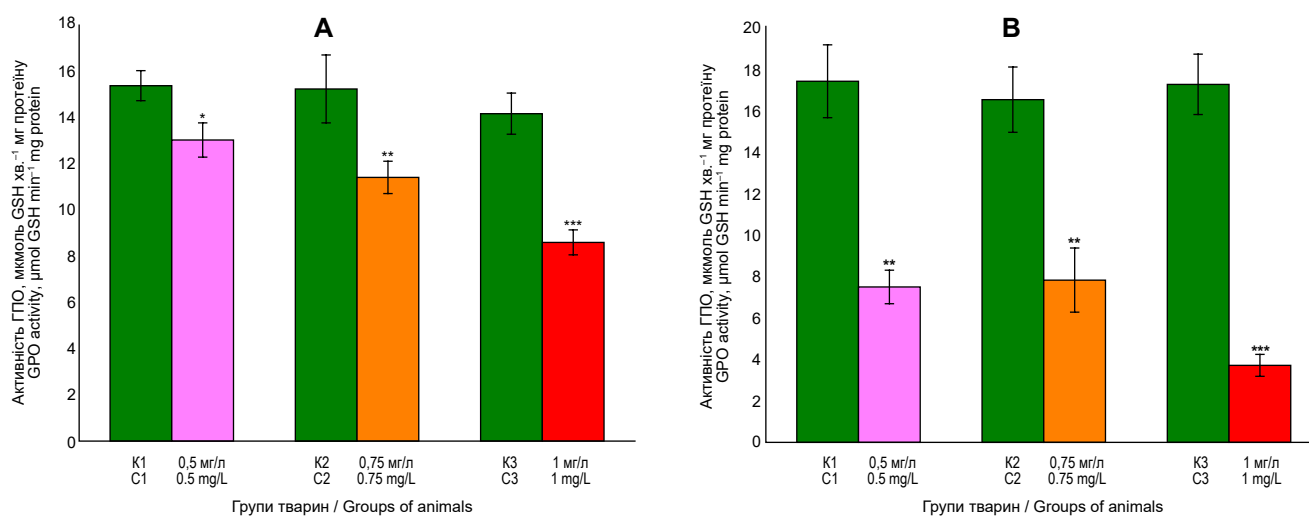


Рис. 5. Активність ГПО у гомогенатах тканин головного (А) і тулубового відділів (В) риб *Danio rerio* через 24 год. після інтоксикації ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л

Fig. 5. The activity of GPO in the homogenates of the tissues of the head (A) and torso section (B) of *Danio rerio* fish 24 h after CPF intoxication at concentrations of 0.5 mg/L; 0.75 mg/L and 1 mg/L

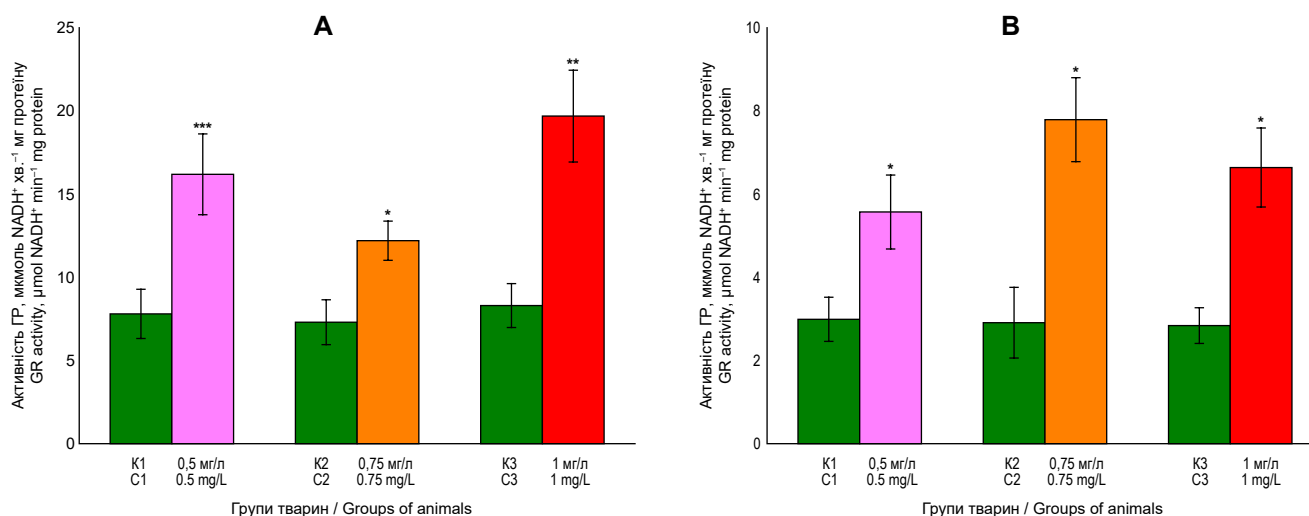


Рис. 6. Активність ГР у гомогенатах тканин головного (А) і тулубового відділів (В) риб *Danio rerio* через 24 год. після інтоксикації ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л

Fig. 6. GR activity in homogenates of tissues of the head (A) and torso section (B) of *Danio rerio* fish 24 h after CPF intoxication at concentrations of 0.5 mg/L; 0.75 mg/L and 1 mg/L

Висновки

Через 24 год. після отруєння риб *Danio rerio* доданням до акваріумної води ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л у гомогенатах тканин головного та тулубового відділів спостерігали порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, про що свідчить зростання вмісту продуктів ПОЛ та змін активностей ензимів системи антиоксидантного захисту.

Встановлено лінійний характер зростання ензиматичної активності КАТ як у тканинах голови, так і тулуба риб унаслідок впливу ХПФ у діапазоні доз 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л. На тлі зростання каталазної активності у *D. rerio* через 24 год. після отруєння виявлено обернено пропорційну залежність між дозою та активністю ГПО у обох досліджуваних тканинах. У тканинах голови та тулуба встановлено інгібування активності СОД за дії ХПФ, мінімальних значень активності цього ензиму досягала за дії ХПФ у концентрації 0,75 мг/л.

Результати дослідження підтверджують виникнення у риб *Danio rerio* ХПФ-індукованого оксидативного стресу після 24 год. інтоксикації ХПФ у концентраціях 0,5 мг/л; 0,75 мг/л та 1 мг/л.

Проведене дослідження розширює знання про механізми перебігу ХПФ-індукованого оксидативного стресу у риб *Danio rerio*. Водночас отримані дані свідчать про участь антиоксидантної системи риб у нормалізації прооксидантно-антиоксидантного дисбалансу за гострого отруєння ФОС.

Перспективи подальших досліджень

Результати досліджень можуть бути використані як підґрунтя для з'ясування механізмів прооксидантно-антиоксидантної регуляції при гострому отруєнні риб сполуками, які застосовують як діючі речовини у складі фосфорорганічних пестицидів.

- Babaei F, Ramalingam R, Tavendale A, Liang Y, Yan LSK, Ajuh P, Cheng SH, Lam YW. Novel blood collection method allows plasma proteome analysis from single zebrafish. *J. Proteome Res.* 2013; 12 (4): 1580–1590. DOI: 10.1021/pr3009226.
- Carlberg I, Mannervik B. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *J. Biol. Chem.* 1975; 250 (14): 5475–5480. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)41206-4.
- Deb N, Das S. Chlorpyrifos toxicity in fish: a review. *Curr. World Environ.* 2013; 8 (1): 77–84. DOI: 10.12944/CWE.8.1.17.
- Dimitrova MT, Tishinova V, Velcheva V. Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase-catalase system in carp (*Cyprinus carpio*). *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* 1994; 108 (1): 43–46. DOI: 10.1016/1367-8280(94)90087-6.
- Dubinina EE. Biological role of superoxide anion radical and SOD in body tissues. *Successes Modern Biol.* 1989; 108 (1): 71–81. (in Russian)
- Firat Ö, Tutus R. Comparative acute toxicity assessment of organophosphate and avermectin insecticides on a freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2020; 105 (4): 582–587. DOI: 10.1007/s00128-020-02990-y.
- Hollert H, Keiter SH. *Danio rerio* as a model in aquatic toxicology and sediment research. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2015; 22: 16243–16246. DOI: 10.1007/s11356-015-5362-1.
- Huang X., Cui H, Duan W. Ecotoxicity of chlorpyrifos to aquatic organisms: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2020; 200: 110731. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.110731.
- Karadag HO, Firat Ö, Firat Ö. Use of oxidative stress biomarkers in *Cyprinus carpio* L. for the evaluation of water pollution in Atatürk Dam lake. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2014; 92: 289–293. DOI: 10.1007/s00128-013-1187-0.
- Khalil AM. Toxicological effects and oxidative stress responses in freshwater snail, *Lanistes carinatus*, following exposure to chlorpyrifos. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2015; 116: 137–142. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2015.03.010.
- Khan FR, Alhewairini SS. Zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism. In: *Current Trends in Cancer Management*. Ed. by L Streba, DI Gheonea, M Schenker. 2019: 3–18. ISBN 978-1-83880-006-2.
- Korolyuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG, Tokarev VE. Method for determining catalase activity. *Lab. Work*, 1988; 1: 16–19. (in Russian)
- Kurdil NV, Zozulya IS, Ivashchenko OV. Features of acute organophosphate pesticides poisonings in urban area: recommendations for prehospital care. *Family Medicine.* 2014; 4 (54): 54–57. (in Russian)
- Liu P, Wu CH, Chang XL, Qi XJ, Zheng ML, Zhou ZJ. Assessment of chlorpyrifos exposure and absorbed daily doses among infants living in an agricultural area of the Province of Jiangsu, China. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 2014; 87 (7): 753–762. DOI: 10.1007/s00420-013-0918-1.
- López-López E, Sedeño-Díaz JE, Soto C, Favari L. Responses of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and Na⁺/K⁺-ATPase in liver of the fish *Goodea atripinnis* exposed to Lake Yuriria water. *Fish Physiol. Biochem.* 2011; 37: 511–522. DOI: 10.1007/s10695-010-9453-0.
- Ma J, Liu Y, Niu D, Li X. Effects of chlorpyrifos on the transcription of CYP3A cDNA, activity of acetylcholinesterase, and oxidative stress response of goldfish (*Carassius auratus*). *Environ. Toxicol.* 2014; 30 (4): 422–429. DOI: 10.1002/tox.21918.
- Majumder R, Kaviraj A. Acute and sublethal effects of organophosphate insecticide chlorpyrifos on freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Drug Chem. Toxicol.* 2019; 42 (5): 487–495. DOI: 10.1080/01480545.2018.1425425.
- Moin VM. A simple and specific method for determining the activity of glutathione peroxidase in erythrocytes. *Lab. Work.* 1984; 12: 724–727. (in Russian)
- Nunes MEM, Müller TE, Murussi C, do Amaral AMB, Gomes JLC, Marins AT, Leitemperger J, Rodrigues CCR, Fiuza TL, Costa MD, Severo ES, Rosemberg DB, Loro VL. Oxidative effects of the acute exposure to a pesticide mixture of cypermethrin and chlorpyrifos on carp and zebrafish — A comparative study. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2018; 206–207: 48–53. DOI: 10.1016/j.cbpc.2018.03.002.
- Rao JV, Rani CHS, Kavitha P, Rao RN, Madhavendra SS. Toxicity of chlorpyrifos to the fish *Oreochromis mossambicus*. *Environ. Contam. Toxicol.* 2003; 70: 985–992. DOI: 10.1007/s00128-003-0079-0.
- Rosalovsky VP, Grabovska SV, Salyha YT. Biochemical and hematological changes in peripheral blood of rats exposed to chlorpyrifos: protective effect of vitamins A and E combination. *Studia Biologica.* 2015; 9 (3): 57–68. DOI: 10.30970/sbi.0903.448.
- Rosalovsky VP, Grabovska SV, Salyha YT. Changes in glutathione system and lipid peroxidation in rat blood during the first hour after chlorpyrifos exposure. *Ukr. Biochem. J.* 2015; 87 (5): 124–132. DOI: 10.15407/ubj87.05.124.

23. Salyha Y. Biological effects assessment of chlorpyrifos and some aspects of its neurotoxicity. *Visnyk Lviv Univer. Biol. Ser.* 2010; 54: 3–14. Available at: <http://publications.lnu.edu.ua/bulletins/index.php/biology/article/view/8913>
24. Salyha YT. Chlorpyrifos leads to oxidative stress-induced death of hippocampal cells *in vitro*. *Neurophysiol.* 2013; 45 (3): 193–199. DOI: 10.1007/s11062-013-9356-7.
25. Salyha Y, Rosalovsky V. Effects of chlorpyrifos intoxication on biochemical and erythrocytic parameters of rats blood. *Visnyk of the Lviv University. Series Biology* 2016; 71: 56–64. Available at: <http://publications.lnu.edu.ua/bulletins/index.php/biology/article/view/4148>
26. Sandah JF, Baldwin DH, Jenkins JJ, Scholz NL. Comparative thresholds for acetylcholinesterase inhibition and behavioral impairment in coho salmon exposed to chlorpyrifos. *Environ. Toxicol. Chem.* 2005; 24 (1): 136–145. DOI: 10.1897/04-195R.1.
27. Slotkin TA. Developmental cholinotoxicants: nicotine and chlorpyrifos. *Environ. Health Perspect.* 1999; 1: 71–80. DOI: 10.1289/ehp.99107s171.
28. State Standard of Ukraine 4074-2001. Water quality — Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (*Teleostei, Cyprinidae*)] static method (ISO 7346-1:1996, MOD). (in Ukrainian)
29. Sunanda M, Rao JCS, Neelima P, Simhachalam G. Toxicity and effects of chlorpyrifos in a non-target organism (Fish) — A review. *J. Atoms Mol.* 2016; 6 (3): 966–976.
30. Svitlyi SS, Voronina VM, Rudaya LO, Kornuta NO, Bagley EA. More on chlorpyrifos-based preparations in human living environment. *Ukr. J. Modern Probl. Toxicol.* 2019; 1 (85): 26–41. DOI: 10.33273/2663-4570-2019-85-1-26-40. (in Ukrainian)
31. Ural MŞ, Yonar ME, Yonar SM. Protective effect of ellagic acid on oxidative stress and antioxidant status in *Cyprinus carpio* during malathion exposure. *Cell Mol. Biol.* 2015; 61 (5): 58–63. PMID: 26516111.
32. Zhang Z, Liu Q, Cai J, Yang J, Shen Q, Xu S. Chlorpyrifos exposure in common carp (*Cyprinus carpio* L.) leads to oxidative stress and immune responses. *Fish Shellfish Immunol.* 2017; 67: 604–611. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.06.048.

State of the antioxidant system in *Danio rerio* fish due to the chlorpyrifos intoxication

V. V. Dovhaniuk, V. P. Rosalovsky, Yu. T. Salyha
ros.volodymyr@gmail.com

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

The article presents the results of studies of acute intoxication in *Danio Rerio* fish by chlorpyrifos at concentrations 0.5 mg/L; 0.75 mg/L and 1 mg/L of aquarium water for 24 h and its influence on the content of TBK-active products, catalase activity (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPO), glutathione reductase (GR) in their tissues. After 24 h in the fish staying in water with chlorpyrifos added in concentrations 0.75 mg/L and 1 mg/L we have revealed an increase of the content of TBK-active products in the studied tissues compared to the control values. The linear nature of the growth of the CAT enzymatic activity in the tissues of head and torso due to the effects of chlorpyrifos in doses of 0.5 mg/L; 0.75 mg/L and 1 mg/L. was shown. On the background of the catalase activity growth in *Danio rerio*, in 24 h after the action of the toxicant, there was an inversely proportional dependence between the dose of chlorpyrifos and the activity of GPOs in both investigated parts of the fish body. In the tissues of the head and torso, inhibition of SOD activity for the action of chlorpyrifos has been established. The activity of this enzyme was the lowest at the chlorpyrifos concentration 0.75 mg/L. The obtained results complement the data on the toxic effect of chlorpyrifos on ichthyofauna and on the course of chlorpyrifos-induced oxidative stress in *Danio rerio* fish. The obtained data can be used in the development of additional biochemical markers of chlorpyrifos and other phosphor organic compounds intoxication and in toxicological and environmental experiments, taking into account the growing intensity of the use of insecticidal preparations in agricultural production and everyday life.

Key words: *Danio rerio*, chlorpyrifos, intoxication, antioxidative system, oxidative stress, enzymes, cholinesterase



Ефективність робочих розчинів дезінфекційного засобу «Біолайд» за дії на грамнегативні та грампозитивні бактерії

О. М. Чечет¹, В. Л. Коваленко², Т. О. Гаркавенко¹, О. І. Горбатюк¹, Т. Г. Козицька¹

kovalenkodoktor@gmail.com

¹Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи, вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

²Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

Наведено аналіз результатів дослідження дезінфекційного засобу «Біолайд» для використання у птахівництві та інших галузях сільського господарства, оскільки на сьогодні залишається актуальним розроблення дешевих та ефективних дезінфектантів. Останніми роками птахівництво має тенденцію до швидкого розвитку, запити населення на цю продукцію помітно зросли. За комплексного підходу у виробництві курятини можна підвищити продуктивність птахівницьких підприємств, енергоефективність та знизити собівартість продукції. Одну з важливих ролей відіграє дезінфекція ефективними та недорогими засобами. За розроблення нових ефективних дезінфекційних засобів, основна мета проведених досліджень полягала у визначенні ефективності дії робочих розчинів у концентраціях 0,1; 0,2; 0,25 та 0,5% на грамнегативні *E. coli* ATCC 25922 та грампозитивні *S. aureus* ATCC 25923 впродовж різних періодів часу — 20, 30, 60 та 120 хв. після симуляції білкового забруднення. Тестові культури *E. coli* ATCC 25922 та *S. aureus* ATCC 25923 у ліофілізованому вигляді зберігалися в холодильнику за температури $-70\pm 5^\circ\text{C}$. За пересіву на живильні середовища було відновлено метаболічні процеси і перевірено їх відповідність основним типовим властивостям цього виду збудників. Симуляцію білкового забруднення проводили за допомогою стерильної інактивованої сироватки крові великої рогатої худоби у кількості 40,0% до обсягу використаної бактеріальної суспензії. У лабораторних випробуваннях як тест-об'єкти використовували гладкі поверхні кахлю площею 100 см². Аналіз отриманих результатів досліджень показав високу ефективність 0,5% робочих розчинів дезінфекційного засобу «Біолайд» щодо тестових культур *E. coli* ATCC 25922 та *S. aureus* ATCC 25923 протягом 60 хв., оскільки ця концентрація робочого розчину дезінфектанту і час впливу забезпечували знищення на 99,99–100,0% грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів за імітації білкового забруднення тест-об'єктів.

Ключові слова: дезінфекційний засіб «Біолайд», робочі розчини, білкова забрудненість, тестова культура *E. coli* ATCC 25922, тестова культура *S. aureus* ATCC 25923, тест-об'єкти

Стійкість мікроорганізмів до дезінфекційних засобів є однією з важливих характеристик, який спонукає до проведення досліджень нових дезінфектантів щодо вибору безпечних і ефективних режимів їх застосування у виробництві. Випуск біологічно безпечної продукції тваринного походження особливо тісно пов'язаний з дезінфекцією [2, 13, 14, 16].

Однією з умов дезінфекції є ротація дезінфекційних засобів для запобігання виробленню мікро-

організмами стійкості до дії дезінфекційних засобів [10, 16, 17, 21]. Тому на сьогодні залишаються актуальними питання розробки нових, дешевих та ефективних дезінфекційних засобів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

Відомо, що ефективність проведеної дезінфекції залежить від низки обставин, головними з яких є характеристика та режими застосування дезін-

фекційного засобу [1, 4–7, 15]. За результатами аналізу літературних даних щодо наявних сьогодні на ринку дезінфекційних засобів встановлено, що наразі не існує засобів дезінфекції, які б одночасно забезпечували високу протибактеріальну активність, миттєву знешкоджувальну дію, не проявляли корозійних і токсичних властивостей, були б безпечними для обслуговуючого персоналу і тварин, відповідали екологічній безпеці, економічності, низькій ціні, стійкості до органічних навантажень і простоті у виготовленні [8–9, 18–20, 22].

Мета і завдання роботи

Метою роботи було вивчити ефективність дії нового розробленого дезінфекційного засобу «Біолайд» на грамнегативні та грампозитивні бактерії за симуляції білкового забруднення.

Завданням дослідження було визначити оптимальні концентрації робочих розчинів дослідного дезінфектанту «Біолайд», які б забезпечували знешкодження мікроорганізмів на рівні 99,99–100,0 % за найменшої тривалості контакту.

Матеріали і методи

Дослідження були проведені на базі лабораторії діагностики захворювань бактеріальної етіології науково-дослідного бактеріологічного відділу (ЛДЗБЕ НДБВ) Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ). Експерименти другого етапу досліджень щодо визначення ефективності дії розробленого дезінфектанту «Біолайд» за симуляції білкового забруднення, наближеної до умов за його практичного застосування, проводили з використанням криогенізованих тест-культур *E. coli* ATCC 25922 як представника грамнегативних мікроорганізмів та *S. aureus* ATCC 6538 як представника грампозитивних бактерій, взятих із колекції тестових мікроорганізмів ЛДЗБЕ НДБВ.

Розморожені тест-культури *E. coli* ATCC 25922 і *S. aureus* ATCC 6538 пересівали на триптон-соєвий бульйон (ТСБ) для відновлення метаболічних процесів та перевіряли їх на чистоту росту, видову ідентичність і стійкість до стандартних дезінфекційних засобів — хлораміну, перекису водню, глутарового альдегіду і АДБАХ у відповідних концентраціях згідно з чинними методиками [4, 10]. Після підтвердження результатами перевірки тестові культури пересівали на триптон-соєвий агар (ТСА) та культивували в термостаті за температури $+37\pm 1^\circ\text{C}$ протягом 24 год., після чого виготовляли бактеріальні суспензії з концентрацією 0,5 за оптичним стандартом каламутності Мак-Фарланда (мікробне навантаження — близько $1,4\times 10^8$ КУО/см³) змивом колоній добової культури мікроорганізмів відповідного виду з ТСА стерильним фізіологічним розчином.

Виготовлення робочих розчинів ДЗ «Біолайд» з їх кінцевими концентраціями 0,1; 0,2; 0,25 та 0,5% показано у табл. 1.

Таблиця 1. Виготовлення робочих розчинів дослідного дезінфектанту «Біолайд» для вивчення наслідків його дії за білкової забрудненості поверхонь

Table 1. Preparation of experimental disinfectant "Biolide" working solutions for studying the effect of its action on protein contamination on surfaces

Концентрація робочих розчинів дослідного дезінфектанту «Біолайд», % Concentration of experimental disinfectant "Biolide" working solutions, %	Кількість дезінфекційного засобу/вода, мл The amount of disinfectant/water, ml
	Розрахунок на 1 л (1000 см ³) робочого розчину Calculation per 1 l (1000 cm ³) of working solution
0,1	0,1+99,9
0,2	0,2+99,8
0,25	0,25+99,75
0,5	0,5+99,5

Випробування для визначення ефективності дезінфекційного засобу «Біолайд» проводили із застосуванням суспензійного методу без відомого нейтралізатора відмиванням тестових мікроорганізмів від дослідного дезінфектанту розчином для розведення.

Як тест-об'єкти використовували кахельну плитку з гладенькою поверхнею, ретельно очищену механічним способом — миттям водою з милом і щіткою, та добре висушену. На кахельних плитках виділяли по 3 квадрати (трьохразова повторюваність досліду) площею 10,0×10,0 см² для вивчення ефективності дії кожного робочого розведення дезінфекційного засобу і для постановки контролю тестових культур, до яких не застосовували засобу «Біолайд». Дослідні і контрольні поверхні виділених квадратів на кахельних плитках контамінували, наносячи тест-культури із розрахунку 0,5 см³ за концентрації близько $1,4\times 10^8$ КУО/см³ суспензії і рівномірно розподіливши її по поверхні за допомогою скляного шпателя, та висушували за температури $+18\dots +20^\circ\text{C}$ і відносній вологості 59%.

З урахуванням виробничих умов зі значною біологічною забрудненістю доквілля, випробування нового дослідного дезінфекційного засобу «Біолайд» в лабораторних умовах проводили за симуляції поверхонь тест-об'єктів інтерферуючою речовиною, в ролі якої використовували інактивовану сироватку крові великої рогатої худоби в об'ємі 0,2 см³ (40,0% до об'єму нанесеної тестової культури) та висушу-

вали за тих же умов. Таку ж симуляцію поверхонь тест-об'єктів проводили і на контрольних кахельних плитках.

Після повного висихання дослідних і контрольних поверхонь на кахельних плитках їх обробляли відповідними робочими концентраціями дезінфекційного засобу «Біолайд» в об'ємі по 0,3 см³ за допомогою розпилювача. Контрольні поверхні кахельних плиток зрошували стерильною дистильованою водою у таких же об'ємах. Після нанесення відповідних робочих розчинів дезінфекційного засобу «Біолайд» на відповідні контаміновані поверхні тривалість контакту становила 20, 30, 60 і 120 хв. кожного розведення окремо.

Після закінчення контакту дослідні і контрольні поверхні відповідних квадратів (10,0×10,0 см²) ретельно протирали стерильними марлевими серветками з подальшим відмиванням їх у флаконах зі 10,0 см³ стерильної дистильованої води та постійним струшуванням впродовж 10 хв. Далі отриману суспензію переносили до стерильних центрифужних пробірок і триразово відмивали від дослідного дезінфектанту. Після останнього відмивання об'єм суспензії доводили до початкового, відтак його розводили ще у 10² разів та робили посіви. Після контамінації дослідних поверхонь кахельних плиток суспензією тест-культури *S. aureus* ATCC 25923 відмивну рідину висівали в об'ємах по 0,2 см³ на середовище Бейд-Паркера; після контамінації плиток суспензією тест-культури *E. coli* ATCC 25922 відмивну рідину в таких же об'ємах висівали на середовище Ендо.

Облік результатів проводили, підраховуючи кількість колонієутворювальних мікроорганізмів у контролі та кількості колоній, які виростили за посіву відмивної рідини з дослідних поверхонь, оброблених кожним відповідним робочим розчином засобу «Біолайд». Число колонієутворювальних мікроорганізмів у контролі брали за 100,0%. Відсоток знезараження вираховували за формулою:

$$X = 100 - (A/B),$$

де X — відсоток знезараження, %;

A — кількість колоній колонієутворювальних мікроорганізмів у контролі;

B — кількість колоній колонієутворювальних мікроорганізмів у досліді.

Ефективними вважали робочі розчини дезінфекційного засобу «Біолайд», які забезпечували знезараження контамінованої тестовими культурами *S. aureus* ATCC та *E. coli* ATCC поверхні тест-об'єктів не менше, ніж на 99,99% за тривалості контакту до 120 хв. [3, 5].

За проведення експериментальних досліджень були використані морфологічні, бактеріологічні, культуральні, біохімічні, статистичні методи.

Результати й обговорення

Аналіз результатів досліджень показав, що ефективність дослідного дезінфекційного засобу «Біолайд» за його дії на тестові культури *E. coli* ATCC 25922 та *S. aureus* ATCC 25923 з імітацією білкової забрудненості залежить від концентрації його робочих розчинів і терміну контакту (табл. 2).

Повна бактерицидна дія дослідного дезінфектанту на грамнегативні бактерії тестової культури *E. coli* ATCC 25922 з симульованою білковою забрудненістю виявлена після експозиції 60 хв. за робочих розчинів засобу у 0,25 та 0,5% концентрації.

Найвищу ефективність дослідний дезінфектант проявляв після 120-хвилинного контакту в концентрації 0,25 і 0,5%, що підтверджено 100,0% бактерицидністю.

Як показали результати досліджень, протягом меншого періоду контакту, а саме 20 і 30 хв., за симуляції білкової забрудненості жодна із робочих концентрацій засобу не проявляла здатності повністю знешкодити грамнегативні та грампозитивні бактерії.

За дії дезінфекційного засобу «Біолайд» на грампозитивні бактерії *S. aureus* ATCC 25923 з імітацією білкової забрудненості повне знешкодження збудника виявили за експозиції 60 хв. після контакту з робочим розчином дезінфекційного засобу в концентрації 0,5%.

Найбільшу ефективність дослідного дезінфектанту «Біолайд» за симуляції білкової забрудненості виявили за дії його робочих розчинів 0,25 та 0,5%, що підтвердило 100,0% знешкодження бактерій тестової культури.

Отже, ефективність дослідного дезінфекційного засобу «Біолайд» виявили після дії його розчинів з концентрацією 0,25 та 0,5% протягом 60 і 120 хв. Це забезпечувало знешкодження грамнегативних бактерій *E. coli* ATCC 25922 від 99,99 до 100,0%.

Відомо, що у виборі дезінфекційного засобу висувають вимоги щодо його ефективної дії за короткі терміни контакту зі збудником і з найнижчою бактерицидною концентрацією засобу, що збіглося з нашими критеріями аналізу результатів досліджень [2, 7]. Розробляють нові дезінфекційні засоби з використанням сучасних технологій [4, 11, 13, 15, 18].

За імітації білкового забруднення бактерицидна дія 0,5% робочого розчину дослідного дезінфектанту «Біолайд» з 99,99% знешкодженням тестової культури *S. aureus* ATCC 25923 проявлялася через 60 хв. контакту. Бактерицидна дія 0,25 та 0,5% робочих розчинів дослідного дезінфектанту «Біолайд» із 100,0% знешкодженням тестової культури *S. aureus* ATCC 25923 проявлялася через 120 хв. контакту.

Таблиця 2. Показники ефективності робочих розчинів дезінфекційного засобу «Біолайд» за їх дії на тест-об'єкти з симуляцією білкової забрудненості (Мзм, n=3)
Table 2. Indicators of disinfectant "Biolide" working solutions efficiency on test objects with simulation of protein contamination (Mzm, n=3)

Середня кількість колонієутворювальних мікроорганізмів тест-культур, які вирости після дії робочих розчинів дезінфекційного засобу за різних термінів його контакту з тест-культурами, % Average number of colony forming microorganisms of test cultures grown after action of research disinfectant working solutions with different duration of contact with test cultures, %		Облік результатів досліджень після дії робочих розчинів дезінфекційного засобу за різних термінів його контакту з тест-культурами, % Account of research results after action of research disinfectant working solutions with different duration of contact with test cultures, %						
0,1	0,2	0,25	0,5	контроль росту тестових культур / control of test cultures growth	0,1	0,2	0,25	0,5
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Тестова культура E. coli ATCC 25922 / Test culture E. coli ATCC 25922								

Експозиція 20 хв. / Exposure 20 min.

суцільний ріст (підррахунок колоній неможливий) / continuous growth (counting colonies is impossible)	суцільний ріст (підррахунок колоній неможливий) / continuous growth (counting colonies is impossible)	920±103	363±207	14000±380	не ефективний / not effective	не ефективний / not effective	93,40	97,40
---	---	---------	---------	-----------	-------------------------------	-------------------------------	-------	-------

Експозиція 30 хв. / Exposure 30 min.

суцільний ріст (підррахунок колоній неможливий) / continuous growth (counting colonies is impossible)	суцільний ріст (підррахунок колоній неможливий) / continuous growth (counting colonies is impossible)	214±16	8±43	14000±380	не ефективний / not effective	не ефективний / not effective	98,50	99,94
---	---	--------	------	-----------	-------------------------------	-------------------------------	-------	-------

Експозиція 60 хв. / Exposure 60 min.

суцільний ріст (підррахунок колоній неможливий) / continuous growth (counting colonies is impossible)	560±58	2±1,7	ріст колоній відсутній / no colony growth	14000±380	не ефективний / not effective	96,00	99,99	100,0
---	--------	-------	---	-----------	-------------------------------	-------	-------	-------

Експозиція 120 хв. / Exposure 120 min.

суцільний ріст (підррахунок колоній неможливий) / continuous growth (counting colonies is impossible)	128±37	ріст колоній відсутній / no colony growth	ріст колоній відсутній / no colony growth	14000±380	не ефективний / not effective	99,10	100,0	100,0
---	--------	---	---	-----------	-------------------------------	-------	-------	-------

Завершення табл. 2
Ending of table 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Тестова культура <i>S. aureus</i> ATCC 25923 / Test culture <i>S. aureus</i> ATCC 25923								
Експозиція 20 хв. / Exposure 20 min.								
суцільний ріст (підрахунок колоній неможливий) continuous growth (counting colonies is impossible)	суцільний ріст (підрахунок колоній неможливий) continuous growth (counting colonies is impossible)	суцільний ріст (підрахунок колоній неможливий) continuous growth (counting colonies is impossible)	1100±103	14000±380	не ефективний not effective	не ефективний not effective	не ефективний not effective	92,10
Експозиція 30 хв. / Exposure 30 min.								
суцільний ріст (підрахунок колоній неможливий) continuous growth (counting colonies is impossible)	суцільний ріст (підрахунок колоній неможливий) continuous growth (counting colonies is impossible)	980±47	350±29	14000±380	не ефективний not effective	не ефективний not effective	93,00	97,50
Експозиція 60 хв. / Exposure 60 min.								
суцільний ріст (підрахунок колоній неможливий) continuous growth (counting colonies is impossible)	230±53	7±53	2±0,3	14000±380	не ефективний not effective	98,40	98,95	99,99
Експозиція 120 хв / Exposure 120 minutes								
суцільний ріст (підрахунок колоній неможливий) continuous growth (counting colonies is impossible)	180±33,3	ріст колоній відсутній no colony growth	ріст колоній відсутній no colony growth	14000±380	не ефективний not effective	98,70	100,0	100,0

Висновки

1. За симуляції білкового забруднення тестових об'єктів бактерицидна дія дезінфекційного засобу «Біолайд» на тестову культуру *E. coli* ATCC 25922 у робочих розчинів з концентрацією 0,25 та 0,5% проявлялася за 60 і 120 хв. контакту, що підтвердилось знешкодженням тестових мікроорганізмів від 99,99 до 100,0%.

2. Встановлено повне, від 99,99 до 100,0% знешкодження тестової культури *S. aureus* ATCC 25923 за дії робочого розчину «Біолайд» у концентрації 0,5% протягом 60 хв. та робочих розчинів 0,25 та 0,5% протягом 120 хв. за симуляції білкового забруднення.

3. Для дезінфекції рекомендовано застосування 0,5% робочого розчину «Біолайд» протягом 60 хв. контакту, оскільки він забезпечує повне, від 99,99 до 100,0% знешкодження тестових грам-негативної *E. coli* ATCC 25922 та грам-позитивної *S. aureus* ATCC 25923 культур за симуляції білкової забрудненості.

Перспективи подальших досліджень

Дослідження токсичності дезінфекційного засобу «Біолайд» в лабораторних умовах на курчатах-бройлерах дасть можливість застосувати препарат на виробництві у присутності птиці.

- Addie DD, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hartmann K, Horzinek MC, Hosie MJ, Lloret A, Lutz H, Marsilio F, Pennisi MG, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Möstl K. Disinfectant choices in veterinary practices, shelters and households: ABCD guidelines on safe and effective disinfection for feline environments. *J. Feline Med. Surg.* 2015; 17 (7), 594–605. DOI: 10.1177/1098612X15588450.
- Fotina GA. Determination of the toxicity of the drug "Bi-des" for the disinfection of poultry objects. *Sci. messenger LNUVMBT S. Z. Gzhysky. Vet. ser.* 2014; 16; 2 (1): 340–347. (in Ukrainian)
- Harkavenko TO, Kovalenko VL, Horbatiuk OI, Pinchuk NH, Kozytska TH, Harkavenko VM, Ordynska DO. Methodical recommendations for the purpose of bactericidal activity and control of the presence of bacteriostatically effective disinfectants. Kyiv, DNDILDZBEVSE. 2020. (in Ukrainian)
- Hoshko KO. Analysis of efficiency of the methods disinfection and sterilization in dental. *Medicine and Pharmacy. Scientific Collection "InterConf+": International scientific discussion: problems, tasks and prospects, June 21–22. 2021; 6: 238–245. DOI: 10.51582/interconf.21-22.06.2021.26.* (in Ukrainian)
- Ivchenko VM (ed.). The handbook on sanitary-microbiological methods for research of food products and environmental objects. Bila Tserkva, 2004: 242 p. (in Ukrainian)
- Kotsiumbas IY, Tishyn OL, Khomiak RV. Bacteriological properties of *Aerosan* disinfectant. *Sci. Tech. Bulletin SSRCI Vet. Med. Prod. Feed Add.* 2012; 13 (3–4): 211–214. (in Ukrainian)
- Kovalenko VL, Ponomarenko GV, Kukhtyn MD, Midyk SV, Horiuk YV, Garkavenko VM. Changes in lipid composition of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* cells under the influence of disinfectants *Barez*, *Biochlor* and *Geocide*. *Ukr. J. Ecol.* 2018; 8 (1): 547–550. DOI: 10.15421/2018_248. (in Ukrainian)
- Kovalenko VL, Ponomarenko GV, Kukhtyn MD, Paliy AP, Bodnar OO, Rebenko HI, Kozytska TG, Makarevich TV, Ponomarenko OV, Paliy AP. Evaluation of acute toxicity of the "Orgasept" disinfectant. *Ukr. J. Ecol.* 2020; 10 (4): 273–278. DOI: 10.15421/2020_199. (in Ukrainian)
- Kuo J. Disinfection processes. *Water Environ. Res.* 2017; 89 (10): 1206–1244. DOI: 10.2175/106143017X15023776270278.
- Kwon D, Lim YM, Kwon JT, Shim I, Kim E., Lee DH, Yoon B, Kim P, Kim HM. Evaluation of pulmonary toxicity of benzalkonium chloride and triethylene glycol mixtures using *in vitro* and *in vivo* systems. *Environ. Toxicol.* 2019; 34 (5): 561–572. DOI: 10.1002/tox.22722.
- Li X, Wu Z, Dang C, Zhang M, Zhao B, Cheng Z, Chen L, Zhong Z, Ye Y, Xia Y. A metagenomic-based method to study hospital air dust resistome. *Chem. Eng. J.* 2021; 406: 126854. DOI: 10.1016/j.cej.2020.126854
- Liulin PV, Severin RV, Gontar AM. Research of sorption and disinfecting properties of the "Mikadez" layer dryer. *Vet. Sci. Tech. Anim. Husb. Nat. Management.* 2021; 7: 63–67. DOI: 10.31890/vtpp.2021.07.10. (in Ukrainian)
- Montagna MT, Triggiano F, Barbuti G, Bartolomeo N, De Giglio O, Diella G, Lopuzzo M, Rutigliano S, Serio G, Caggiano G. Study on the *in vitro* activity of five disinfectants against nosocomial bacteria. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2019; 16 (11): 1895. DOI: 10.3390/ijerph16111895.
- Moshynets OV, Spiers AJ. Viewing biofilms within the larger context of bacterial aggregations. In: *Microbial Biofilms — Importance and Applications*. Ed. by D Dhanasekaran, N Thajuddin. 2016: 3–22. DOI: 10.5772/62912.
- Nechyporenko OL, Berezovskyi AV, Shkromada OI, Ulko LH, Nychyk SA. Assessment of ADG disinfectant cumulative and metabolic rate effect in laboratory animals. *Vet. Biotechnol.* 2020; 36: 128–137. DOI: 10.31073/vet_biotech36-13. (in Ukrainian)
- Opryshko VI, Prokhach AV, Prokhach AV, Kurt-Akhetmetova HS. Amazing nearby. Effective and safe protection against nosocomial infections. *Neonat. Surg. Perinatal Med.* 2021; 11 (1/39): 73–76. DOI: 10.24061/2413-4260.XI.1.39.2021.10. (in Ukrainian)
- Paliy AP, Ishchenko KV, Dubin RA. Effectiveness of aldehyde disinfectant against the causative agents of tuberculosis in domestic animals and birds. *Ukr. J. Ecol.* 2018; 8 (1): 845–850. DOI: 10.15421/2018_283. (in Ukrainian)
- Paliy AP, Ishchenko KV, Marchenko MV, Dubin RA. Effectiveness of aldehyde disinfectant against the causative agents of tuberculosis in domestic animals and birds. *Ukr. J. Ecol.* 2018; 8 (1): 845–850. DOI: 10.15421/2018_283. (in Ukrainian)
- Paliy A, Zavgorodniy A, Stegnyy B, Gerilovych A. A study of the efficiency of modern domestic disinfectants in the system of TB control activities. *Agricultural Science and Practice.* 2015; 2 (2): 26–31. DOI: 10.15407/agrisp2.02.026. (in Ukrainian)
- Ponomarenko GV, Kovalenko VL, Ponomarenko OV, Balackiy YO. Effect of microbicide on lactic acid and metal nanoparticles on laboratory animals. *Ukr. J. Ecol.* 2017; 7 (4): 482–485. DOI: 10.15421/2017_148. (in Ukrainian)
- Pustovit NA, Pinchuk NH. The use of test lenses in the disinfection systems in the fig against campylobacterios. *NUBIP Rep.* 2019; 78 (2): 75–85. DOI: 10.14738/dopovid2019.02.021. (in Ukrainian)
- Soto E, Abdelrazek SMR, Basbas PJ, Duignan PJ, Rios C, Byrne BA. Environmental persistence and disinfectant susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* recovered from pinnipeds stranded on the California Coast. *Vet. Microbiol.* 2019; 241: 108554. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.108554.

Efficiency of “Biolide” disinfectant working solutions for action on gram-negative and gram-positive bacteria

O. N. Chechet¹, V. L. Kovalenko², T. O. Garkavenko¹, O. I. Gorbatyuk¹, T. H. Kozytska¹
kovalenkodoktor@gmail.com

¹State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Examination,
30 Donetska str., Kyiv, 03151, Ukraine

²State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms,
30 Donetska str., Kyiv, 03151, Ukraine

The article presents the results of the new developed disinfectant “Biolide” research for use in poultry and other sectors of agriculture, because today the problem of developing cheap and effective disinfectants remains relevant. In recent years, the poultry industry has a tendency to rapid development, since the population’s demands for poultry products have increased markedly. With an integrated approach to the production of chicken meat, it is possible to increase the productivity of poultry enterprises, energy efficiency and reduce the cost of production. When applying such an integrated approach, one of the important roles is played by the provision of high-quality disinfection with effective and inexpensive means. In connection with the relevance of the development of new effective disinfectants, the main purpose of the research was to determine the effectiveness of working solutions in concentrations of 0.1; 0.2; 0.25 and 0.5% for gram-negative *E. coli* ATCC 25922 and gram-positive *S. aureus* ATCC 25923 for different periods of time — 20, 30, 60 and 120 min. after the simulation of protein contamination. Test cultures *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923 in lyophilized form were stored in a refrigerator at a temperature $-70\pm 5^{\circ}\text{C}$. By replacing them on nutrient media, metabolic processes were restored and their correspondence to the main typical properties for this type of pathogens was checked. Simulation of protein contamination was carried out using sterile inactivated blood serum of cattle in the amount of 40.0% to the volume of the used bacterial suspension. In laboratory tests, smooth surfaces of tiles with an area 100 cm² were used as test objects. The analysis of the obtained research results showed the high efficiency of 0.5% working solutions of the new disinfectant “Biolide” when exposed to test cultures *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923 for 60 min., since this concentration of the working disinfectant solution and the exposure time ensured the destruction by 99.99–100.0% of gram-negative and gram-positive microorganisms when imitating protein contamination of test objects.

Key words: “Biolide” disinfectant, working solutions, protein contamination, *E. coli* ATCC 25922 test culture, *S. aureus* ATCC 25923 test culture, test objects



Вплив техногенного навантаження Бурштинської ТЕС на овець різних вікових груп

О. Я. Захарів¹, І. В. Вудмаска², А. П. Петрук³

orest.zakhariv@gmail.com

¹Відокремлений підрозділ Національного університету біоресурсів і природокористування України «Бережанський агротехнічний інститут»,

вул. Академічна, 20, м. Бережани, Тернопільський р-н, Тернопільська обл., 47501, Україна

²Інститут біології тварин НААН,

вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

³Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Ґжицького, вул. Пекарська 50, м. Львів, 79010, Україна

Тривале перебування тварин у зоні техногенного навантаження призводить до кількісних змін картини крові, зниження рівня активності клітинних і гуморальних чинників захисту. При цьому гематологічні показники та імунологічний статус овець в екологічно забрудненій зоні змінюються з віком згідно із загально-біологічними закономірностями, об'єктивно відображаючи інтенсивність обмінних процесів у постнатальному онтогенезі. Як об'єкт використовували овець тонкорунної карпатської породи. Дослідження проведені на молодняку від маток, утримуваних у забрудненій і екологічно чистій зонах, віком 1-го, 2-х, 4-х, 8-ми місяців, і на дорослих тваринах віком 1,5 року. Узагальнено результати досліджень, виконаних у зимовий і весняний періоди 2010–2012 рр. Вміст гемоглобіну у крові овець із зони техногенного забруднення був нижчим, ніж у крові овець, яких вирощували в екологічно чистій зоні: відповідно, в 1-місячному віці — на 9,5%; у 2-місячному віці — на 29,0%; у 4-місячному віці — на 24,5%; у 8-місячному віці — на 21,9%; в 1,5-річному віці — на 21,25% ($P \leq 0,05-0,001$). Ми не виявили вірогідних відмінностей у загальному вмісті лейкоцитів крові овець, яких утримували у зоні техногенного забруднення і поза нею. У ягнят із екологічно забрудненої зони бактерицидна активність сироватки крові (БАСК) в 4-місячному віці була на 32% меншою ($P \leq 0,01$), ніж в однолітків з благополучної зони, а лізоцимна активність сироватки крові (ЛАСК) — на 29% меншою ($P \leq 0,01$). Фагоцитарна активність, яка характеризує рівень клітинного імунітету, була на 31,5% нижчою у ягнят із зони техногенного забруднення, ніж з екологічно чистої зони ($P \leq 0,01$). Виявлено більшу концентрацію Свинцю, Міді, Кадмію, Цинку у крові овець, яких утримували у зоні техногенної дії. Найяскравіше ці відмінності проявилися у дорослих тварин. У крові дорослих овець, утримуваних в зоні антропогенного пресингу, рівень Свинцю, Міді, Кадмію, Цинку становив 2,86; 103,7; 3,30; 349,8 мкг%, проти 0,41; 13,2; 1,05; 121,4 мкг% в овець із благополучної зони ($P \leq 0,001$) відповідно. Специфічні імуноглобуліни підкласів IgG1 і IgG2 у тварин із зони забруднення становили, відповідно, 61 і 52% від аналогічного показника у крові ягнят, вирощуваних поза зоною техногенного навантаження. Збереженість ягнят у забрудненій зоні була майже удвічі нижчою, ніж в екологічно благополучній. Отримані результати свідчать про загальні закономірності у виникненні комплексу порушень в організмі тварин у відповідь на несприятливі умови. Це стає очевидним, якщо врахувати відставання у рості й розвитку, а також передчасну загибель ягнят, які зазнають техногенного впливу.

Ключові слова: техногенне навантаження, хімічні елементи, вівці, кров, імунітет

Теплові електростанції є одним з найвагоміших чинників забруднення довкілля [1, 14, 16, 17]. Особливу небезпеку становлять викиди в атмосферу зважених часток (PM2.5, PM10), діоксиду сірки (SO₂), оксидів азоту

(NOx), важких металів, золи. Серед європейських теплових електростанцій особливо значні викиди шкідливих речовин продукують електростанції України, проекти яких морально застаріли, а очисні споруди недостатньо

досконалі і не відповідають сучасним вимогам. Вісім українських теплових електростанцій входять до переліку тридцяти найбільших забруднювачів за всіма показниками: Курахівська, Бурштинська, Трипільська, Луганська, Вуглегірська, Слов'янська, Ладижинська й Запорізька [1–4]. Українські теплові електростанції продукують близько 70% викидів дрібнодисперсного пилу (PM10) у Європі [1]. Найбільшими джерелами викидів діоксиду сірки з вугільних електростанцій у Європі є Україна, Туреччина, Сербія та Боснія і Герцеговина. В Україні третину споживання електроенергії покривають ТЕС, збудовані до 1976 р., з яких лише Трипільська ТЕС оснащена обладнанням для десульфуризації. Серед українських ТЕС найнебезпечнішою є Бурштинська, яка за викидами діоксиду сірки займає перше місце у Європі [4]. За викидами зважених частинок PM10 Бурштинська ТЕС на другій позиції у Європі [3], а за викидами оксидів азоту — на 11-му місці [2]. Проектна нормативна санітарно-захисна зона Бурштинської ТЕС становить 500 м, що не забезпечує розсіювання основних забруднювальних речовин, внаслідок чого у зону потенційного забруднення, враховуючи напрям домінуючих вітрів, потрапила територія с. Бовшів Галицького р-ну Івано-Франківської обл. [10].

Тривале перебування тварин у зоні техногенного навантаження призводить до кількісних змін картини крові, зниження рівня активності клітинних і гуморальних чинників захисту [5, 6]. При цьому гематологічні показники та імунологічний статус тварин, утримуваних в екологічно забрудненій зоні, змінюються з віком згідно із загальними біологічними закономірностями, об'єктивно відображаючи інтенсивність обмінних процесів у постнатальному онтогенезі. З віком акумуляція токсичних речовин в органах і тканинах тварин суттєво зростає [13]. Виявлені значні зміни у накопиченні важких металів в організмі овець із зони техногенного пресингу [7–9, 11, 12].

У зв'язку з цим, вельми актуальним є вивчення впливу хімічних забруднень у ранньому постнатальному онтогенезі, оскільки адаптаційні системи цього періоду відрізняються морфофункціонально незрілістю, тоді як способи й ефект дії техногенних чинників середовища на організм залежать від періоду онтогенезу. Ці питання мають не тільки теоретичне, але й практичне значення та не були належно висвітлені в науковій літературі. Немає комплексних робіт, у яких були б досліджені взаємозалежності та причини фізіологічних відхилень одних процесів щодо інших. Тому такі дослідження українці важливі, оскільки це дозволить розкрити основні закономірності й механізми дії антропогенних чинників середовища на організм тварин для розробки наукових обґрунтованих прийомів і заходів щодо охорони навколишнього середовища, а також отримання сільськогосподарської продукції високої якості.

Екологічний підхід дозволить встановити залежність морфологічних і функціональних змін організму від певного комплексу умов навколишнього середовища, розкрити механізми пристосування до цих умов

і, на підставі встановлених закономірностей, знайти можливість цілеспрямованих дій на організм з метою підвищення його стійкості до несприятливих чинників [8]. З цих позицій, пошук надійних тестів, які дозволяють виявити й оцінити реакцію продуктивних тварин на антропогенну дію, вельми актуальний [14].

Метою роботи було оцінити вплив токсичних чинників довкілля на гематологічну картину крові овець протягом раннього постнатального періоду розвитку, показники гуморального й клітинного імунітету та вміст окремих хімічних елементів у сироватці крові уражених тварин у зоні техногенного забруднення.

Матеріали і методи

У цій роботі узагальнено результати досліджень, виконаних у зимовий і весняний періоди 2010–2012 рр. Оцінку особливостей індивідуального розвитку овець (формування фізіолого-біохімічного, імунологічного, генетичного статусу, господарсько-корисних ознак) проводили у двох сільгоспприємствах. Як об'єкт використали овець тонкорунної карпатської породи.

Дослідження проведені на молодняку від маток, утримуваних у забрудненій і екологічно чистій зонах, віком 1-, 2-, 4-, 8-ми місяців, і на дорослих тваринах віком 1,5 року. Зоною забруднення обрано сільськогосподарське підприємство ПАФ «Бовшів» Галицького р-ну Івано-Франківської обл., на екологічну ситуацію якого негативно впливає Бурштинська ТЕС. Для контролю використовували тварин, відібраних у зоні поза техногенним забрудненням — у ТЗОВ «За волю» Жидачівському р-ну Львівської обл.

Проби крові для лабораторних досліджень брали з яремної вени у ранковий період до годування. Для виявлення онтогенетичних особливостей формування фізіолого-біохімічного, імунологічного статусу проводили такі дослідження:

- гематологічні показники на автоматичному гематологічному аналізаторі *Datacele-16 (Hysel, Франція)*;
- лізоцимна активність нефелометричним методом В. Г. Дорофейчука, фагоцитарна активність за методикою В. М. Митюшнікова, бактерицидна активність сироватки крові (БАСК) фотонейлометричним методом за Ю. М. Марковим [12];
- вміст Свинцю, Кадмію, Міді і Цинку в атомно-абсорбційному аналізаторі *Селмі С-115 ПК*.

Отримані експериментальні дані обробляли методом варіаційної статистики за Н. О. Плохінським, Є. К. Меркур'євою, А. І. Яблочкіним з використанням комп'ютерних програм *Stats*, з обчисленням коефіцієнтів кореляції, детермінації.

Результати й обговорення

Можна припустити, що антропогенні процеси, які визначають екологію індустриальних територій, супро-

Таблиця 1. Морфологічний склад крові овець різних екологічних зон в онтогенезі (n=10)
Table 1. Morphology of blood cells in sheep from different ecological zones in ontogenesis (n=10)

Вік, місяців Age, months	Зона / Area					
	техногенне забруднення / contamination			поза техногенним забрудненням / no contamination		
	Гемоглобін, г/л Hemoglobin, g/L	Еритроцити, $10^{12}/л$ RBC count, $10^{12}/L$	Лейкоцити, $10^9/л$ WBC count, $10^9/L$	Гемоглобін, г/л Hemoglobin, g/L	Еритроцити, $10^{12}/л$ RBC count, $10^{12}/L$	Лейкоцити, $10^9/л$ WBC count, $10^9/L$
1	75,8±1,06	7,39±0,22	5,90±0,16	83,8±1,18	7,76±0,29	5,22±0,18
2	78,4±1,19	7,81±0,26	6,38±0,19	110,7±1,28	9,70±0,53	6,34±0,19
4	79,7±1,12	7,08±0,19	6,57±0,17	105,7±1,70	8,60±0,36	6,53±0,23
8	73,3±1,33	7,24±0,33	6,57±0,22	94,0±1,47	9,64±0,39	6,52±0,16
18	73,5±1,44	6,92±0,31	7,97±0,23	93,4±1,56	8,45±0,46	6,86±0,23

воджуються комплексною поліелементною хімізацією і металізацією викидів відходів в атмосферу, призводять до формування забруднених потоків, які потрапляють на земну поверхню, а через поверхневий стік з ґрунтів відбувається змив забруднень і залучення їх у водноміграційний ланцюг. Тому ґрунт, знаходячись на перетині шляхів міграції елементів, є найчутливішим індикатором геохімічної ситуації на місцевості. За ведення тваринництва в умовах поєднаної техногенної дії хронічного характеру, коли дія токсикантів не провокує в організмі яскраво виражених змін, які призводять до масової загибелі тварин, важливим джерелом інформації є оцінка гомеостазу організму на різних етапах його онтогенезу. На рівні цілісного організму про зміну гомеостазу свідчать гематологічні, біохімічні, імунологічні показники, кількість і якість отримуваної продукції. Метою наших досліджень було вивчення метаболізму в овець, які протягом всього життя перебували на території сільськогосподарського підприємства ПАФ «Бовшів» Галицького р-ну Івано-Франківської обл.

Морфологічна картина крові ягнят у перший місяць життя, незалежно від зони проживання, представлена достатньо низькою кількістю формених елементів крові (еритроцитів, лейкоцитів), порівняно з подальшими періодами постнатального онтогенезу (табл. 1). До 2-місячного віку кількість еритроцитів зростає і досягла максимальних величин у ягнят в зоні техногенної дії до $7,85 \times 10^{12}/л$, в екологічно благополучній — до $9,74 \times 10^{12}/л$. Найвища концентрація червоних клітин крові у цей віковий період, ймовірно, є необхідною умовою підвищеного рівня споживання кисню тканинами й органами в період росту.

Для подальших вікових періодів (4-, 8-місячних ягнят) характерне зниження кількості еритроцитів у крові незалежно від зони утримання. Проте у всі періоди онтогенезу в крові овець з благополучної зони було вірогідно більше червоних клітин крові порівняно з однолітками із зони техногенного забруднення: в 1-місячному віці — на $0,47 \times 10^{12}$; у 2-місячному віці — на $1,89 \times 10^{12}$; в 4-місячному віці — на $1,52 \times 10^{12}$; у 8-місячному віці — на $2,40 \times 10^{12}$; в 1,5-річному віці — на $1,52 \times 10^{12}$ кров'яних тілець ($P \leq 0,01-0,001$). Зменшення еритроцитів у крові

овець різних вікових груп стало передумовою до зниження рівня гемоглобіну, що негативно відображається на обмінних процесах у різних органах і тканинах організму в період росту. Як вказують представлені у табл. 1 дані, вміст гемоглобіну у крові овець із зони техногенного забруднення був нижчим, ніж у крові овець в екологічно чистій зоні: відповідно, в 1-місячному віці — на 9,5%; у 2-місячному віці — на 29,0%; у 4-місячному віці — на 24,5%; у 8-місячному віці — на 21,9%; у 1,5-річному віці — на 21,25% ($P \leq 0,05-0,001$). Ми не виявили вірогідних відмінностей у загальному вмісті лейкоцитів крові овець у зоні техногенного забруднення і поза нею. Однак спостерігається тенденція до невірогідного зростання кількості лейкоцитів у всіх вікових групах овець, утримуваних у господарстві біля Бурштинської ТЕС, тобто в зоні техногенного забруднення. При цьому дані, представлені у табл. 1, вказують на вікову динаміку збільшення кількості лейкоцитів у крові овець від 1-місячного до 1,5-річного віку.

Порівняльний аналіз показників природної резистентності виявив низку особливостей, зумовлених не тільки зрілістю організму на різних етапах онтогенезу овець, але й екологічною ситуацією зон їхнього проживання. Найяскравіше ці відмінності виявилися у величині констант, які характеризують гуморальний імунітет (табл. 2). Так, у ягнят із зони техногенного забруднення бактерицидна активність сироватки крові (БАСК) в 4-місячному віці була на 32% меншою ($P \leq 0,01$), ніж бактерицидна активність крові в однолітків з благополучної зони, а лізоцимна активність сироватки крові (ЛАСК) — відповідно, на 29% меншою ($P \leq 0,01$). Що стосується фагоцитарної активності, яка характеризує рівень клітинного імунітету, то і цей показник був на 31,5% нижчим у ягнят із зони техногенного забруднення, ніж з екологічно чистої зони ($P \leq 0,01$).

Оцінка загальної реактивності ягнят, визначена за шкірною пробою з антиовечою сироваткою, дозволила віднести ягнят із зони техногенного забруднення до низькорективних, оскільки товщина шкірної складки через 2 год. після введення сироватки становила лише 0,8 см, тоді як в молодянку з екологічно благополучної зони — 1,1 см ($P \leq 0,01$).

Таблиця 2. Показники гуморального і клітинного імунітету у 4-місячних ягнят різних екологічних зон (n=10)
Table 2. Indices of humoral and cellular immunity in 4-month-old lambs from different ecological areas (n=10)

Показники Indices	Зона / Area	
	техногенне забруднення contamination	поза техногенним забрудненням no contamination
Бактерицидна активність, % Bactericidal activity, %	39,4±1,12	58,0±2,29
Лізоцимна активність, % Lysozyme activity, %	38,8±2,01	54,6±3,07
Фагоцитарна активність, % Phagocytic activity, %	28,2±0,83	41,5±3,11
Шкірна проба, см Skin test, cm	0,8±0,05	1,1±0,03
Імуноглобулін G1, грам/л Immunoglobulin G1, g/l	16,1±1,13	26,0±1,54
Імуноглобулін G2, грам/л Immunoglobulin G2, g/L	3,4±0,2	6,5±0,95
Збереження молодняка, % Lamb survival rate, %	47,8±3,44	81,4±4,23

Специфічні імуноглобуліни, які належать до підкласів IgG1 і IgG2, у тварин із зони забруднення становили, відповідно, 61 і 52% від їх рівня у крові ягнят, вирощуваних поза зоною техногенного пресингу. Варто також вказати, що збереження ягнят у цій зоні було майже удвічі нижчим, ніж в екологічно благополучній зоні.

Проведений нами аналіз мінерального складу крові та порівняння цих показників в онтогенезі в овець, утримуваних у різних екологічних зонах, виявив закономірність у віковій динаміці досліджуваних хімічних елементів. Незалежно від зони проживання, у крові ягнят збільшувалися концентрації хімічних елементів під час їх постнатального розвитку (табл. 3).

Проте привертає увагу вірогідно більша концентрація досліджуваних елементів у крові овець із зони техногенної дії. Найяскравіше ці відмінності виявилися у дорослих тварин. У крові дорослих овець, які перебували в зоні антропогенного пресингу, рівень Свинцю, Міді, Кадмію, Цинку становив 2,86; 103,7; 3,30; 349,8 мкг%, проти 0,41; 13,2; 1,05; 121,4 мкг% в овець з благополучної зони (P<0,001) відповідно.

Таблиця 3. Рівень хімічних елементів у крові овець різних зон в онтогенезі, мкг% (n=10)
Table 3. The level of chemical elements in the blood of sheep of different zones in ontogenesis, µg% (n=10)

Вік, місяців Age, months	Хімічні елементи				Сумарна концентрація Total concentration
	Свинець / Lead	Мідь / Copper	Кадмій / Cadmium	Цинк / Zink	
Зона техногенного забруднення / Contaminated area					
2	0,26±0,09	7,8±0,52	0,13±0,09	87,3±0,58	95,49
4	0,67±0,21	11,9±0,81	0,69±0,12	137,5±2,14	150,76
8	1,19±0,28	22,7±1,10	1,13±0,23	200,8±3,21	225,82
18	2,86±0,29	103,7±11,1	3,30±0,11	349,8±3,64	459,66
Зона поза техногенним забрудненням / Noncontaminated area					
2	0	1,3±0,09	0	54,5±0,21	55,80
4	0,12±0,02	2,4±0,10	0,01±0,002	81,3±0,24	83,83
8	0,16±0,04	7,0±0,14	0,03±0,003	107,1±0,49	114,29
18	0,41±0,09	13,2±0,35	1,05±0,03	121,4±2,10	136,06

Отримані дані можна розглядати, по-перше, як свідчення наявності онтогенетичних особливостей у формуванні мікроелементного складу крові, а по-друге, як доказ негативної дії на організм антропогенних чинників середовища. Все це дозволяє припустити наявність загальних закономірностей у виникненні комплексу порушень в організмі тварин у відповідь на несприятливі умови. Це стає очевидним, якщо врахувати відставання у рості й розвитку, а також передчасну загибель ягнят, котрі зазнають техногенного впливу.

Висновки

1. Гематологічні показники, концентрація метаболітів у крові, імунологічний статус овець, утримува-

них у різних екологічних зонах, змінюються з віком згідно із загальними біологічними закономірностями, об'єктивно відображаючи інтенсивність обмінних процесів у постнатальному онтогенезі: вищу — в його ранній період (до 4-х місяців), спад і стабілізацію — у пізній (1,5 року).

2. Виявлена значна варіабельність у рівні накопичення важких металів в органах і тканинах овець в зоні техногенного пресингу. З віком тварин акумуляція токсичних речовин в органах і тканинах зростала.

3. Встановлені зміни є результатом тривалої дії антропогенних чинників середовища у постнатальному онтогенезі, які призвели до напруженого функціонування всіх систем і органів, зниження резервних адаптаційних можливостей зростаючого організму і як наслідок — порушення метаболізму в основних його ланках.

Перспективи подальших досліджень

Необхідні дослідження, спрямовані на розроблення способів профілактики негативної дії шкідливих компонентів теплових електростанцій.

- EMBER. Coal power air pollution contributors in Europe, 2019. Available at: <https://public.flourish.studio/visualisation/5851767>
- EMBER. Top NOx polluters from coal power in Europe, 2019. Available at: <https://public.flourish.studio/visualisation/5936982>
- EMBER. Top PM10 polluters from coal power in Europe, 2019. Available at: <https://public.flourish.studio/visualisation/5847481>
- EMBER. Top SO₂ polluters from coal power in Europe, 2019. Available at: <https://public.flourish.studio/visualisation/5851337>
- Hejna M, Gottardo D, Baldi A, Dell'Orto V, Cheli F, Zaninelli M, Rossi L. Review: Nutritional ecology of heavy metals. *Animal*. 2018; 12 (10): 2156–2170. DOI: 10.1017/S175173111700355X.
- Hendryx M, Zullig KJ, Luo J. Impacts of coal use on health. *Annu. Rev. Public Health*. 2020; 41: 397–415. DOI: 10.1146/annurev-publhealth-040119-094104.
- Johnsen IV, Aaneby J. Soil intake in ruminants grazing on heavy-metal contaminated shooting ranges. *Sci. Total Environ*. 2019; 687: 41–49. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.06.086.
- Kushta J, Paisi N, Van Der Gon HD, Lelieveld J. Disease burden and excess mortality from coal-fired power plant emissions in Europe. *Environ. Res. Lett*. 2021; 16 (4): 045010. DOI: 10.1088/1748-9326/abecff.
- Mahajan VE, Yadav RR, Dakshinkar NP, Dhoot VM, Bhojane GR, Naik MK, Shrivastava P, Naoghare PK, Krishnamurthi K. Influence of mercury from fly ash on cattle reared nearby thermal power plant. *Environ. Monit. Assess*. 2012; 184: 7365–7372. DOI: 10.1007/s10661-011-2505-9.
- Pankivskiy YI, Oshurkevych-Pankivska OY, Ostashuk MB. Assessment of Burshtyn TPP impact on ambient air. *Sci. Bull. UNFU*. 2017; 27 (5): 59–62. DOI: 10.15421/40270512.
- Petanová J, Bencko V. Health aspects of exposure to emissions from burning coal of high beryllium content: interactions with the immune system. *Cent. Eur. J. Public Health*. 2020; 28 (3): 198–201. DOI: 10.21101/cejph.a5851.
- Pošiváková T, Hromada R, Veszelits Laktičová K, Vargová M, Korytár Ľ, Švajlenka J, Húska M, Hatalová E, Pošivák J, Klein R. Concentrations of selected toxic elements in ewe living near an environmentally loaded area of eastern part of Slovakia. *Ann. Agric. Environ. Med*. 2017; 24 (4): 667–670. DOI: 10.26444/aaem/75639.
- Raj D, Maiti SK. Sources, bioaccumulation, health risks and remediation of potentially toxic metal(loid)s (As, Cd, Cr, Pb and Hg): an epitomized review. *Environ. Monit. Assess*. 2020; 192 (2): 108. DOI: 10.1007/s10661-019-8060-5.
- Saljnikov E, Mrvić V, Čakmak D, Jaramaz D, Perović V, Antić-Mladenović S, Pavlović P. Pollution indices and sources appointment of heavy metal pollution of agricultural soils near the thermal power plant. *Environ. Geochem. Health*. 2019; 41 (5): 2265–2279. DOI: 10.1007/s10653-019-00281-y.
- Vlizio 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)
- Ye J, Zubair M, Wang S, Cai Y, Zhang P. Power production waste. *Water Environ. Res*. 2019; 91 (10): 1091–1096. DOI: 10.1002/wer.1200.
- Zierold KM, Odoh C. A review on fly ash from coal-fired power plants: chemical composition, regulations, and health evidence. *Rev. Environ. Health*. 2020; 35 (4): 401–418. DOI: 10.1515/revh-2019-0039.

Influence of Burshtyn thermal power plant emissions on sheep at different age

O. Ya. Zakhariv¹, I. V. Vudmaska², A. P. Petruk³
orest.zakhariv@gmail.com

¹Separated Subdivision of National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine “Berezhany Agrotechnical Institute”,

20 Akademichna str., Berezhany, Ternopil district, Ternopil region, 47501, Ukraine

²Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

³Stepan Gzhytsky National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv,
50 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

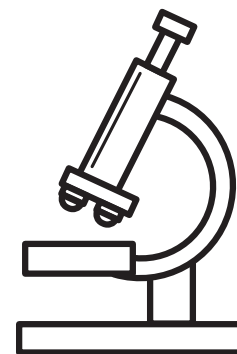
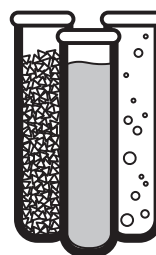
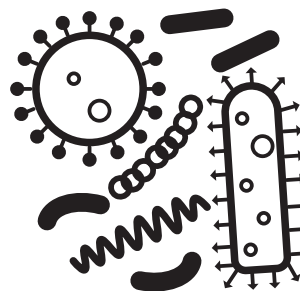
Prolonged stay of animals in the area of man-made load leads to quantitative changes in the blood, reducing the level of activity of cellular and humoral defense factors. The hematological parameters and immunological status of sheep in the ecologically contaminated area change with age according to general biological patterns, objectively reflecting the intensity of metabolic processes in postnatal ontogenesis. Sheeps of fine-wool Carpathian breed were used as an object. The studies were performed on lambs obtained from ewes kept in contaminated and environmentally friendly areas, aged 1, 2, 4, 8 months and on adult animals aged 1.5 years. The results of research conducted in the winter and spring periods of 2010–2012 are summarized. The content of hemoglobin in the blood of sheep in the zone of man-made pollution was lower than in the blood of sheep in the ecologically clean zone, respectively: at 1 month of age — by 9.5%; at 2 months of age — by 29.0%; at the age of 4 months — by 24.5%; at the age of 8 months — by 21.9%; at the age of 1.5 years — by 21.25% ($P \leq 0.05$ – 0.001). We found no significant differences in the total leukocyte content of sheep, which were kept both in the area of contamination and outside the area of contamination. In lambs from the contaminated area, the bactericidal activity of blood serum at 4 months of age was 32% less ($P \leq 0.01$) than the bactericidal activity of blood in peers from the safe area, and lysozyme activity of serum, respectively — 29% less ($P \leq 0.01$). With regard to phagocytic activity, which characterizes the level of cellular immunity, this indicator was 31.5% lower in lambs from the contaminated area than in lambs from the environmentally friendly area ($P \leq 0.01$). A higher concentration of Lead, Copper, Cadmium and Zinc in the blood of sheep in the man-made contaminated area was detected. These differences were most pronounced in adult animals. In the blood of adult sheep in the zone of anthropogenic pressure, the level of Lead, Copper, Cadmium, Zinc was 2.86; 103.7; 3.30; 349.8 $\mu\text{g}\%$, vs. 0.41; 13.2; 1.05; 121.4 $\mu\text{g}\%$, in sheep from the welfare zone ($P \leq 0.001$). Specific immunoglobulin of subclasses IgG1 and IgG2 in animals from the contaminated area were 61 and 52% of their level outside the area of man-made load. Viability of lambs in this area was almost twice lower than in the environmentally friendly area. The obtained results indicate the presence of general patterns in the occurrence of a complex of disorders in animals in response to adverse conditions. This becomes apparent given the lag in growth and development, as well as the premature death of lambs in the contaminated area.

Key words: technogenic loading, chemical elements, sheep, blood, immunity

Zakhariv OY, Vudmaska IV, Petruk AP. Influence of Burshtyn thermal power plant emissions on sheep at different age. *Biol. Tvarin*. 2021; 23 (4): 73–77. DOI: 10.15407/animbiol23.04.073.

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН ПРОВОДИТЬ:

- Дослідження біохімічних показників (аналізатор *Humalyzer 2000*, Німеччина)
- Гематологічний аналіз (аналізатор *Mythic-18Vet*, Швейцарія)
- Мікробіологічні дослідження (посів на стерильність, антибіограма, 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

Завжди раді співпраці з Вами!