

**МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ УКРАЇНИ  
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА  
І ПЕРЕРОБКИ ПРОДУКЦІЇ  
ТВАРИННИЦТВА**

*Збірник наукових праць*

**Випуск 1 (67)**

Біла Церква  
2009

УДК 06:636

Затверджено вченою  
радою університету  
(Протокол № 3 від 22.12.2008р.)

***Редакційна колегія:***

**Даниленко А.С.**, д-р екон. наук, професор  
(головний редактор);

**Харута Г.Г.**, д-р вет. наук, професор  
(заступник головного редактора);

**Дяченко Л.С.**, д-р с.-г. наук (відповідальний за випуск);

**Розпутній О.І.**, д-р с.-г. наук;

**Рудик І.А.**, д-р с.-г. наук;

**Лясота В.П.**, д-р вет. наук;

**Цехмістренко С.І.**, д-р с.-г. наук;

**Семілетко В.І.**, канд. пед. наук;

**Сокольська М.О.**, зав. РВІКВ (відповідальний секретар)

Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: Зб. наук. праць. – Біла Церква, 2009.– Випуск 1 (67) – 86 с.

До збірника увійшли наукові статті, в яких висвітлені результати наукових досліджень, проведених ученими навчальних закладів та наукових установ аграрного профілю з актуальних питань розробки новітніх технологій виробництва та переробки продукції тваринництва.

© БНАУ, 2009

## РЕАКЦІЯ ЕНЕРГЕТИЧНОЇ СИСТЕМИ МІТОХОНДРІЙ ПЕРЕПЕЛИНОГО ЕМБРІОНА НА ОПРОМІНЕННЯ МОНОХРОМАТИЧНИМ ЧЕРВОНИМ СВІТЛОМ

Встановлена чутливість енергетичної системи мітохондрій ембріонів до електромагнітного випромінювання червоного діапазону. За інтенсивності випромінювання  $0,1 \text{ мВт/см}^2$  спостерігається достовірне ( $p < 0,05$ ) збільшення на 9 % активності цитохром-с-оксидази в тканинах 5-добових ембріонів та печінці 15-добових ембріонів. Активність сукцинатдегідрогенази за дії на ембріони випромінювання червоного діапазону інтенсивністю  $1 \text{ мВт/см}^2$  знижується порівняно з контролем у тканинах 5-добових ембріонів на 66,56 % ( $p < 0,001$ ). Застосування електромагнітного випромінювання червоного діапазону інтенсивністю  $0,1 \text{ мВт/см}^2$  викликає достовірне ( $p < 0,05\text{--}0,001$ ) збільшення на 5,53–45,81 %, порівняно з контролем, вмісту ТБК-реагуючих сполук у тканинах печінки ембріонів протягом усього дослідного періоду інкубації.

**Ключові слова:** монохроматичне випромінювання, світлодіоди, ембріональний розвиток, птиця, енергетичний метаболізм, інкубація.

**Постановка проблеми.** Дослідження біологічної ефективності неіонізуючого випромінювання стосовно тваринних організмів є одним з актуальних напрямів у радіобіології. Накопичені протягом останніх років експериментальні дані щодо регуляторного впливу неіонізуючого електромагнітного випромінювання на метаболічні процеси у тваринних організмах дозволяють розглядати цей фактор як м'який регулятор рівня метаболізму у тваринному організмі в цілому [1]. Актуальним є подальше дослідження проявів біологічної активності монохроматичного електромагнітного випромінювання оптичного діапазону з огляду на виявлені радіопротекторні, імуномодулюючі та гемопоезостимулюючі властивості [2, 3]. У ролі модельного об'єкта пташиний ембріон як ізольована система, можливо, найкраще підходить для вивчення біологічної дії електромагнітного випромінювання лазерних та нелазерних джерел, як для оцінки впливу цих факторів на інтегральні показники біологічної системи, що розвивається, так і на окремі ланки метаболічного процесу.

Враховуючи значущість дослідження закономірностей ембріогенезу тваринних організмів та вивчення регуляторних можливостей впливу на цей процес, а також ключову роль енергетичної системи в метаболізмі ембріона та потенційну можливість монохроматичного електромагнітного випромінювання оптичного діапазону впливати на функціональний стан енергетичної системи, дослідження впливу цього фактора на ембріогенез птиці в цілому та її енергетичну систему, зокрема, є актуальними.

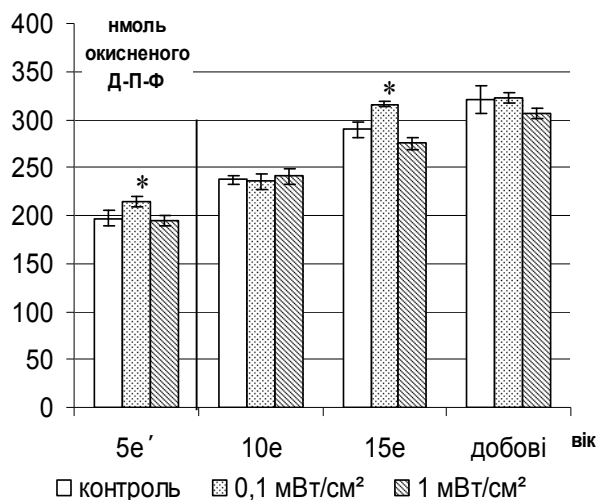
**Матеріал та методи досліджень.** Дослідження проводили у лабораторії біофізичних методів досліджень БНАУ. Для кожного досліду формували контрольні та дослідні групи-аналоги інкубаційних яєць перепела японського (*Coturnix coturnix japonica*), що були однакові за усіма ознаками (вага, термін зберігання, вік та умови утримання птиці тощо). Опромінення здійснювали за допомогою світлодіодів L7113PDC/H ( $\lambda_{\text{max}}=630 \text{ нм}$ ) в цілковитій темряві триразово по 60 с (через 2, 17 та 32 год після початку інкубації). Інтенсивність падаючого випромінювання, яку змінювали, варіюючи площу світлової плями, становила  $0,1$  та  $1 \text{ мВт/см}^2$ . Вказані інтенсивності виявились ефективними у досліді щодо впливу монохроматичного червоного світла на сомітогенез перепелиного ембріона [4]. Вимірювання інтенсивності електромагнітного випромінювання, що падало на поверхню інкубаційних яєць, виконували за допомогою приладу «Измеритель лучевых потоков» (Україна). Контрольні групи-аналоги ембріонів не опромінювали. Інкубацію груп-аналогів ( $n=28$ ) здійснювали у лабораторному інкубаторі ИЛУ Ф-03 з дотриманням стандартних вимог [5].

Для дослідження на 5-ту добу інкубації ембріони звільняли від зародкових оболонок, декапітували, заморожували та готували гомогенати тканин ембріонів у  $0,25 \text{ М}$  розчині сахарози (розведення 1:10). Для визначення кількості АТФ у тканинах ембріонів замість  $0,25 \text{ М}$  розчину сахарози використовували бідистильовану воду. У 10–15-добових ембріонів та добових перепелят досліджували гомогенати печінки (розведення 1:100). Функціональний стан енергетичної системи ембріонів оцінювали за активністю цитохром-с-оксидази [6] та сукцинатдегідрогенази [7], вмістом АТФ [8], лактатдегідрогенази, рівнем пероксидного окиснення ліпідів [9].

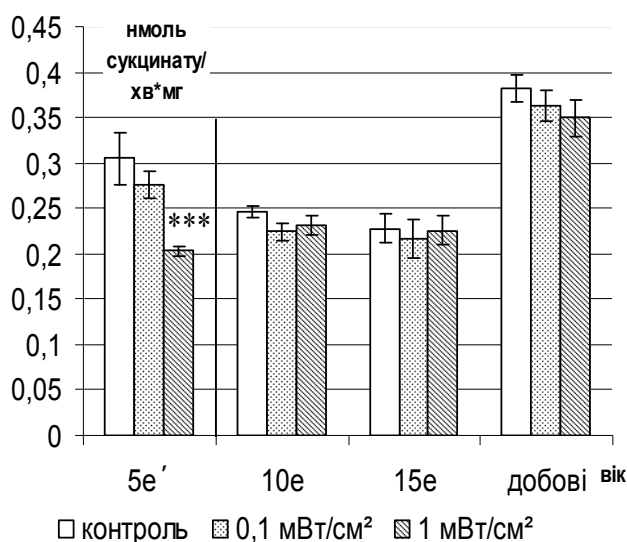
Результати досліджень обробляли за стандартними статистичними методами у програмі Microsoft Excel. Достовірність різниць між групами оцінювали, використовуючи критерії Фішера та Стьюдента [10].

**Результати досліджень та їх обговорення.** У деяких роботах [11, 12] показано, що потенційним фотоакцептором за активації клітинного дихання монохроматичним електромагнітним

випромінюванням є цитохром-с-оксидаза. Наші дослідження зміни її активності у тканинах 5-добових та печінці 10- і 15-добових ембріонів, а також добових перепелят за дії на ембріони електромагнітного випромінювання оптичного діапазону підтверджують причетність цього ферменту до механізмів реалізації біологічної дії досліджуваного фактора. Так, за опромінення ембріонів монохроматичним електромагнітним випромінюванням червоного діапазону інтенсивністю  $0,1 \text{ мВт/см}^2$  спостерігали достовірне ( $p < 0,05$ ) збільшення активності цитохром-с-оксидази на  $9,0 \%$  у 5-добових ембріонів (рис. 1,а). На 10-ту добу не було відмічено різниці активності ферменту між контрольною та дослідною групами. Проте на 15-ту добу знову спостерігали збільшення активності цитохром-с-оксидази в дослідній групі на  $9,22 \%$  ( $p < 0,05$ ) відносно контролю. Добовий молодняк дослідної та контрольної груп мав приблизно однакову активність ферменту у тканинах печінки.



а



б

Рис. 1. Активність цитохром-с-оксидази (а) та сукцинатдегідрогенази (б) у гомогенаті тканин ембріонів (5e') та печінці (10e, 15e, добові) за опромінення перепелиних ембріонів монохроматичним випромінюванням червоного ( $\lambda_{\text{max}}=630 \text{ нм}$ ) діапазону:  $n=7$ ;  $M \pm m$ , нмоль окисненого диметил-п-фенілендіаміну (а), нмоль сукцинату/хв·мг (б)

Електромагнітне випромінювання червоного діапазону інтенсивністю 1 мВт/см<sup>2</sup> практично не впливало на активність цитохром-с-оксидази у тканинах 5- та печінці 10-добових ембріонів. 15-добові ембріони та добові перепели дослідної групи мали дещо нижчу активність ферменту, порівняно з контролем, але різниця між групами не була достовірною.

Отже, отримані результати вказують на незначну активацію цитохром-с-оксидази внаслідок дії монохроматичного електромагнітного випромінювання червоного діапазону на ембріони перепела, що, можливо, відбувається за рахунок збудження реакційних центрів ферменту (цитохрому *a*, цитохрому *a*<sub>3</sub>, Cu<sub>A</sub>, Cu<sub>B</sub>) внаслідок опромінення, яке призводить до зміни окисно-відновних властивостей цих центрів та, як наслідок, до зміни швидкості перенесення електронів на кисень [13].

У тканинах ембріонів, що були опромінені монохроматичним електромагнітним випромінюванням червоного діапазону інтенсивністю 0,1 мВт/см<sup>2</sup>, активність сукцинатдегідрогенази на 5-ту добу інкубації була на 10,51 % нижчою, ніж у контролі (рис. 1, б). Тканини печінки 10-добових ембріонів мали на 9,82 % нижчу стосовно контролю активність ферменту. У 15-добових ембріонів та добового молодняку сукцинатдегідрогеназна активність печінки була на рівні контролю. В усіх випадках різниця з контролем не була достовірною.

За інтенсивності монохроматичного електромагнітного випромінювання червоного діапазону 1 мВт/см<sup>2</sup> активність сукцинатдегідрогенази у 5-добових ембріонів була на 66,56 % ( $p < 0,001$ ) нижчою, ніж у контрольній групі. У наступні періоди дослідження також було відмічено низький щодо контролю рівень активності сукцинатдегідрогенази.

Враховуючи те, що зниження активності СДГ за опромінення ембріонів електромагнітним випромінюванням відбувається на фоні підвищення активності цитохром-с-оксидази, такий ефект можна пояснити активацією саме термінального ферменту дихального ланцюга за дії на ембріони електромагнітного випромінювання, що, можливо, відбувається за рахунок зростання активності комплексу I: НАДН-дегідрогенази електронтранспортного ланцюга мітохондрій.

Кінцевим показником ефективності функціонування енергетичної системи мітохондрій є кількість АТФ, що накопичується внаслідок активного транспорту електронів дихальним ланцюгом.

У групі ембріонів, які були опромінені монохроматичним електромагнітним випромінюванням червоного діапазону інтенсивністю 0,1 мВт/см<sup>2</sup>, кількість АТФ у тканинах ембріонів зростала на 21,76 % порівняно з контролем. Збільшення інтенсивності випромінювання до 1 мВт/см<sup>2</sup> призводило до зниження кількості АТФ на 16,69 % порівняно з контролем. Різниця між дослідними та контрольною групами не була достовірною.

Таким чином, можна говорити про тенденцію зміни рівня АТФ – підвищення чи зниження, залежно від інтенсивності випромінювання, у тканинах внаслідок опромінення ембріонів монохроматичним електромагнітним випромінюванням червоного діапазону. Цей ефект, можливо, виникає внаслідок зміни активності цитохром-с-оксидази за опромінення перепелиних ембріонів.

Враховуючи те, що активація роботи дихального ланцюга мітохондрій призводить до підвищення рівня утвореного супероксидного аніона та відповідно продукту його дисмутації – перекису водню [14], було досліджено вплив триразового опромінення монохроматичним електромагнітним випромінюванням червоного та синього діапазонів перепелиних ембріонів на рівень пероксидного окиснення ліпідів.

Опромінення перепелиних ембріонів електромагнітним випромінюванням червоного діапазону ( $\lambda_{\text{max}}=630$  нм) інтенсивністю 0,1 мВт/см<sup>2</sup> сприяло незначному, але достовірному ( $p < 0,05$ ) зростанню вмісту пероксидних ліпідних сполук у тканинах ембріонів на 5-ту добу інкубації, що відображалось у різниці з контролем на 5,53 % (рис. 2).

У процесі дослідження гомогенатів печінки 10-добових ембріонів було відмічено зростання досліджуваного показника на 30,11 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з контрольною групою. На 15-ту добу інкубації інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у печінці ембріонів дослідної групи була на 36,27 % ( $p < 0,05$ ) більшою порівняно з контрольною групою. Вміст ТБК-реагуючих сполук у добового молодняку був на 45,81 % ( $p < 0,001$ ) більшим, ніж у птиці контрольної групи. Такий ефект може бути пов'язаний зі зростанням інтенсивності проліферації внаслідок опромінення ембріонів [4], адже показано [15], що пероксид водню відіграє важливу роль під час проліферації клітин.

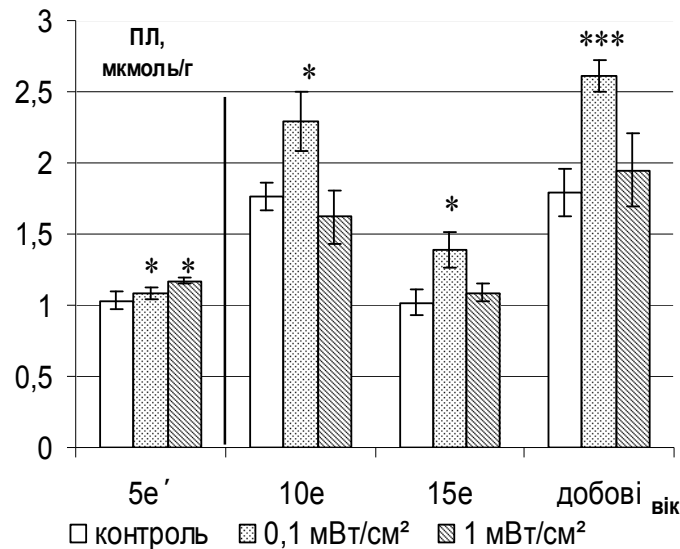


Рис. 2. Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у гомогенаті тканин ембріонів (5e') та печінці (10e, 15e, добові) за опромінення перепелиних ембріонів монохроматичним випромінюванням червоного ( $\lambda_{\max}=630$  нм) діапазону:  
n=7;  $M \pm m$ , мкмоль/г

У другій групі, де інтенсивність електромагнітного випромінювання була 1 мВт/см<sup>2</sup>, також спостерігали зростання інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів у тканинах 5-добових ембріонів на 13,29 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з контролем. У наступні періоди дослідження різниця між контрольними та дослідними групами була недостовірною. У 10-добових ембріонів вміст ТБК-реагуючих сполук був нижчим на 8,64 %. Надалі відмічали незначне зростання інтенсивності ліпопероксидації у тканинах печінки ембріонів дослідної групи на 6,86 % на 15-ту добу інкубації та на 8,94 % у добових перепелят порівняно з контролем.

**Висновки і перспективи подальших досліджень.** Встановлено зростання активності цитохром-с-оксидази у тканинах 5-добових (на 9,0 %,  $p < 0,05$ ) та печінці 15-добових ембріонів (на 9,22 %,  $p < 0,05$ ) порівняно з контролем у разі триразового опромінення електромагнітним випромінюванням червоного діапазону ( $\lambda_{\max}=630$  нм) інтенсивністю 0,1 мВт/см<sup>2</sup> по 60 с. Показано зниження активності сукцинатдегідрогенази на 66,56 % ( $p < 0,001$ ), порівняно з контролем у тканинах 5-добових ембріонів, що були опромінені монохроматичним електромагнітним випромінюванням інтенсивністю 1 мВт/см<sup>2</sup>.

Встановлено, що у тканинах 5-добових ембріонів, які були опромінені червоним світлом інтенсивністю 0,1 мВт/см<sup>2</sup>, рівень АТФ зростає на 21,76 % порівняно з контролем. Збільшення інтенсивності випромінювання до 1 мВт/см<sup>2</sup> призводить до зниження рівня АТФ на 16,69 %. Це можна розцінювати як режимозалежний вплив опромінення на продукцію АТФ, що корелює зі спрямованістю впливу опромінення на сомітогенез [4].

Застосування електромагнітного випромінювання червоного діапазону інтенсивністю 0,1 мВт/см<sup>2</sup> викликає достовірне ( $p < 0,05-0,001$ ) збільшення на 5,53–45,81 %, порівняно з контролем, вмісту ТБК-реагуючих сполук у тканинах печінки ембріонів протягом усього дослідного періоду інкубації. Такий ефект, можливо, відбувається внаслідок зростання активності транспорту електронів дихальним ланцюгом мітохондрій.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Якименко І.Л. Вплив червоного лазерного світла на ембріональний розвиток та стан молодяку перепела японського // Доповіді НАНУ. – 2001. – № 5. – С. 168–171.
2. Клебанов Г.И., Владимиров Ю.А. Клеточные механизмы прайминга и активации фагоцитов // Успехи современной биологии. – 1999. – Т. 119. – № 5. – С. 462–475.
3. Адейшвілі-Сиромятнікова М.К. Лазерна терапія радіаційних уражень яєчників // Експериментальна і клінічна медицина. – 2003. – № 1. – С. 19–23.

4. Якименко І.Л., Цибулін О.С. Регуляторна дія низькоінтенсивного видимого світла на сомітогенез птиці // Доповіді НАН України. – 2007. – № 2. – С. 163–169.
5. Рольник В.В. Биология эмбрионального развития птиц. – Л.: Наука, 1968. – 425 с.
6. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.
7. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): Учебн. пособие / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. – 272 с.
8. Угарова Н.Н., Фрунджян В.Г. Применение биоллюминесцентной АТФ-метрии в биоаналитических целях. – М.: МГУ, 2003. – 52 с.
9. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
10. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. – М.: Колос, 1969. – 256 с.
11. Morimoto Y., Arai T., Kikuchi M. Effect of low-intensity argon laser irradiation on mitochondrial respiration // Lasers Surg. Med. – 1994. – V. 2. – P. 191–199.
12. Eells J.T., Henry M.M., Summerfelt P. Therapeutic photobiomodulation for methanol-induced retinal toxicity // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – V. 6. – P. 3439–3444.
13. Karu T.J. Primary and secondary mechanism of action of visible to near-IR radiation on cells // J.Photochem. Photobiol. – 1999. – V. 1. – P. 1–17.
14. Dalton T.P., Shertzer H.G., Puga A. Regulation of gene expression by reactive oxygen // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1999. – V. 39. – P. 67–101.
15. Grossman N., Schneid N., Reuveni H. 780 nm low power diode laser irradiation stimulates proliferation of keratinocyte cultures: Involvement of oxygen species. // Lasers in Surgery and Medicine. – 1998. – V. 22. – P. 212–218.

#### **Реакция энергетической системы митохондрий перепелиного эмбриона на облучение монохроматическим красным светом**

**А.С. Цибулин**

Установлена чувствительность энергетической системы митохондрий эмбрионов к электромагнитному излучению красного диапазона. При интенсивности излучения 0,1 мВт/см<sup>2</sup> наблюдается достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение на 9 % активности цитохром-с-оксидазы в тканях 5-суточных эмбрионов и печени 15-суточных эмбрионов. Активность сукцинатдегидрогеназы при действии на эмбрионы излучения красного диапазона интенсивностью 1 мВт/см<sup>2</sup> уменьшается в сравнении с контролем в тканях 5-суточных эмбрионов на 66,56 % ( $p < 0,001$ ). Применение электромагнитного излучения красного диапазона интенсивностью 0,1 мВт/см<sup>2</sup> вызывает достоверное ( $p < 0,05–0,001$ ) увеличение на 5,53–45,81 %, в сравнении с контролем, содержания ТБК-реагирующих соединений в тканях печени эмбрионов на протяжении всего исследованного периода инкубации.

**Ключевые слова:** монохроматическое излучение, светодиоды, эмбриональное развитие, птица, энергетический метаболизм, инкубация.

#### **Reaction of energetic system of quail embryo on the irradiation monochromatic red light**

**O. Tsybulin**

Sensitivity of an energetic system embryos to electromagnetic radiation of red range is revealed. At intensity of radiation 0.1 mW/cm<sup>2</sup> it is observed significant ( $p < 0.05$ ) increase in activity cytochrome-c-oxidase in tissue of 5-daily allowances and a liver of 15-daily allowances of embryos on 9 %. Activity succinatdehydrogenase at influence on embryos of electromagnetic radiation decreases with an authentic difference, in comparison with the control, in tissue of 5-daily allowances of embryos at intensity of red radiation 1 mW/cm<sup>2</sup> ( $p < 0.001$ ). Application of electromagnetic radiation of a red range by intensity 0,1 мВт/см<sup>2</sup> causes significant ( $p < 0,05–0,001$ ) increase at 5,53–45,81 %, in comparison with the control, maintenances of TBK-reaction bond in tissue of a liver of embryos throughout all investigated period of hatch.

**Keys words:** monochromatic radiation, light-emitting diodes, embryo development, poultry, energetic metabolism, hatching.

*Надійшла 10.04.2009 р.*