

РАЗЛИЧИЯ В НЯКОИ ХЕМАТОЛОГИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ ПРИ ЧЕТИРИ СТАДА ОВЦЕ СПБМ, ПОВЛИЯНИ ОТ ОПРЕДЕЛЕНИ ЕКОЛОГИЧНИ ФАКТОРИ

Иван Янчев^{1*}, Никола Методиев¹, Костадин Кънчев², Пенка Монева¹, Мая Игнатова¹

¹Институт по животновъдни науки – Костинброд, Селскостопанска Академия, София, България

²Лесотехнически университет, ВМФ, София, България

*Автор за кореспонденция: ijantcev@mail.bg

Резюме

Целта на настоящото проучване е да се оценят стойностите на някои кръвни параметри – брой еритроцити (RBC), хематокрит (HCT), хемоглобин (HGB), средна концентрация на корпускулярен хемоглобин (MCHC), среден корпускулярен хемоглобин (MCH), среден корпускулярен обем на еритроцитите (MCV) и брой еозинофилни левкоцити (EOS) на четири стада овце от Синтетична популация българска млечна (СПБМ), отглеждани на различна надморска височина, в зависимост от оценката на телесното им състояние (ОТС) и наличието на паразити. Изследването е проведено в различни овцеферми на Софийска област - с. Равнище /Р./ (391 m н.в.), експерименталната база на ИЖН- Костинброд /И./ (548 m н.в.), с. Мирково /М./ (715 m н.в.) и с. Боснек /Б./ (940 m н.в.) през юни 2022 г. От четирите стада овце (възраст 1,5-7,5 г.) бяха избрани представителни извадки (съответно от по 58, 61, 17 и 34 животни), на които бяха взети кръвни проби. Оценката на телесното състояние се извърши по време на пробовземането от един човек по адаптирана система. Бяха събрани и фекални проби (сборна проба) за паразитологични тестове (копроовоскопия и копроларвоскопия). Анализът на кръвта беше извършен с 5-Part-Diff Automated Hematology Analyzer.

ОТС на овцете СПБМ от стадото в Б. (най-висока н.в.) е достоверно по-добра от това на животните от Р. и М. и в трите групи – общо за стадата ($P<0,001$) и при групите с висок (съответно $P<0,001$ и $P<0,01$) и нисък ($P<0,001$) HCT. ОТС на овцете от стадото СПБМ на И., предвид липсата на стомашно-чревни паразити и малко по-доброто подхранване с концентриран фураж е по-добра от това на животните от М. и Р. и при трите групи – общо за стадата (съответно $P<0,001$ и $P<0,05$) и при групите с висок (съответно $P<0,001$ и $P<0,05$) и нисък (съответно $P<0,01$ и $P<0,05$) HCT. Достоверна е и разликата между Б. и И., но само при групите с висок HCT ($P<0,001$) и общо за стадата ($P<0,01$). Няма достоверни разлики в ОТС между стадата в Р. и М. между трите групи. Нивата на HCT при овцете СПБМ от стадата в Б. и И. в групата с висок HCT поотделно са достоверно по-високи спрямо тези на животните от Р. (съответно $P<0,05$ и $P<0,001$) и М. (съответно $P<0,01$ и $P<0,05$). При групата с нисък HCT овцете от И. имат също достоверно по-висок HCT от тези в Р. и М. - $P<0,05$. Няма достоверни разлики в нивата на HCT общо в стадото между четирите стада овце СПБМ. Нивата на HGB при овцете СПБМ от стадата в Б. и И. в групата с висок HCT поотделно са също достоверно по-високи спрямо тези на животните

от Р. ($P<0,001$) и М. ($P<0,05$). При групата с нисък НСТ овцете от И. имат достоверно по-висок НГВ от тези в Р. и М. - $P<0,05$. Откроява се достоверно по-високия брой RBC на овцете СПБМ от И. спрямо тези от Р. при групата с висок НСТ ($P<0,001$), което е и единствената достоверна разлика. Аналогични са резултатите и за МСН като достоверна разлика при групите с висок НСТ има само между стадата СПБМ в Б. и Р. – $P<0,05$. Същите достоверни разлики при групите с нисък НСТ, за МСН установяваме отново между стадата в Б. и Р., Б и М., И. и Р. – $P<0,001$ и И. и М. - $P<0,01$. В групите общо за стадата СПБМ отново има достоверни разлики ($P<0,05$) между животните от Б. и М., И. и М., но и между тези в Р. и М. При МСНС в групите с висок НСТ достоверна разлика има само между овцете СПБМ в И. и Р. ($P<0,05$), при групите с нисък НСТ между животните в Б. и Р. ($P<0,05$), а в групите общо за стадата също между И. и Р. ($P<0,01$) и Б. и Р. ($P<0,05$).

Ключови думи: Хематокрит, хематологични показатели, надморска височина, ОТС, гастроинтестинални и белодробни паразити, овце, СПБМ

Увод

Изследванията при овце от синтетичната популация българска млечна (СПБМ), които имат отношение към настоящото изследване са предимно по отношение на връзката между ОТС и продуктивните показатели (Dimova et al. 2010, Stancheva and Staykova, 2013). Авторите установяват, че връзката между оценката на телесното състояние и млечната продуктивност на различните лактации показва по-висока млечност при групата на овцете-майки с оценки над 3.5, както и, че биологичната плодовитост на овцете, лактиращи за първи път е най-висока при животните с бал 3 – 3.5, което съответства на оптималната разплодна кондиция, непосредствено преди случната кампания. Изследвания на вариационността в броя на еритроцитите в зависимост от сезоните и породата правят Boychev et al. (2011)¹ при 394 овце от породите *Awassi*, *East Friesian*, *Pleven black-headed*, *Romanov* и *СПБМ*. Авторите установяват, че през есента се регистрира много важен ефект от породната принадлежност (50,1%), както и че най-голяма сезонна вариационност на броя на еритроцитите е установена при източнофризийската порода. В друго тяхно свързано изследване (Boychev et al., 2011)² по отношение на варирането на хематокрита при проби от същите животни, авторите намират, че нивото на НСТ варира от 0,298 l/l (романовска порода) до 0,334 l/l (източнофризийска овца), най-голямата сезонна променливост на НСТ е открита за *Awassi* и най-важен ефект от породната принадлежност е регистриран през зимата (53.25%, $P<0.001$).

Интерес по отношение на влиянието на надморската височина върху хематологичните показатели е проучването на Barsila et al, (2020) при местни овце *Baruwal* в Хималаите, където кръвните проби са взети от определени групи и на двете места за паша, т.е. от ниско (2431 м н.в.) до високо пасище (3885 м н.в.) и резултатите показват, че RBC, HGB и PCV са значително увеличени на голяма надморска височина ($p < 0,05$), докато МСН (среден корпускуларен хемоглобин) и МСНС (средна корпускуларна концентрация на хемоглобин) са били по-високи на ниска надморска височина. В подобно предишно наше проучване (Moneva et al., 2016) също изследвахме връзката между хематокрита, еритропоезата и динамиката на кортизола в процеса на аклиматизация към голяма надморска височина и по време на транспорт от голяма до ниска надморска височина при овце-майки от породата *Ile de France*. Резултатите в него се тълкуват като се предполага,

че хематокритът е свързан с типа хемоглобин и преобладаващия метаболитен път за енергийно снабдяване което в крайна сметка предопределя модела на хематологични промени по време на излагане на голяма надморска височина, както и чувствителността към транспортен стрес.

Установено е, че хемоглобинът определя или контролира изходните нива на еритропоезата, консумацията на тъканния кислород, физическата активност и поведението (Shirasawa et al., 2003). Предполага се, че овцете, които носят вариант на хемоглобин с нисък афинитет към кислорода, могат да дисоциират повече кислород в периферните тъкани, докато другият вариант на хемоглобин (с висок афинитет към кислорода) продължава с нормален газообмен в белия дроб (Shirasawa et al., 2003). По-ранни проучвания показват, че овце с хемоглобин А имат постоянно по-висок хематокрит от овце с хемоглобин В (Evans и Whitlock, 1964), а Pieragostini et al., 1994 установяват при овце *Leccese*, че условията на околната среда в областта Пулия, по-специално взаимодействията с ендемични паразити, причиняващи анемия и сухият климат може да са довели до селекция на преобладаващ тип HbV на тези овце поради по-малкия вискозитет на кръвта и по-добрата поносимост на анемията.

Редица изследователи посочват, че нормалните физиологични стойности на различните хематологични показатели при селскостопанските животни се влияят от редица фактори като възраст, пол, порода, сезон, надморска височина, климат, условия на хранене и отглеждане и много други екологични фактори (Rahman et al., 2011, Šoch et al., 2011, Macrae, 2017). Хематологичните параметри от друга страна са полезни инструменти за откриване на някои промени в здравословното и физиологичното състояние на животното, които не могат да бъдат открити при физикален преглед (Badawi and Al-Hadithy, 2014). Определянето на текущото здравословно състояние на животното може да има ниска надеждност без хематологични параметри, тъй като тези параметри дават възможност за по-точна диагноза. Ahmadi-hamedani et al. (2016) съобщават, че определянето на хематологични референтни стойности е много важна стъпка, за да се формира основа за клинична интерпретация. Освен това много изследователи установяват например, че нивото на RBC, PCV и HGB при болни животни са значително по-ниски от здравите животни (Al-Samarai and Al-Jbory, 2017).

Изследвания у нас върху овце породата *Lacaune* върху варирането на хематологични показатели в зависимост от поредността на лактацията правят Slavov et al. (2018), в което намират, че хемоглобинът и хематокритът са с повишение при овцете във втора лактация ($p < 0,05$ – $p < 0,01$). В друго изследване за влиянието на сезона върху варирането на хематологичните показатели във връзка и с продуктивността при същата порода Nedeva et al. (2019) установяват, че през зимата броят на белите кръвни клетки, червените кръвни клетки, тромбоцитите, съдържанието на хемоглобин, хематокрит и среден корпускуларен хемоглобин се повишават както при високопродуктивните, така и при нископродуктивните овце ($p < 0,05$ – $p < 0,001$).

Широко прието е, че оценката на телесното състояние (ОТС) на овцете има много предимства пред живото тегло за определяне на състоянието и благосъстоянието на животните (Kenyon et al., 2014, Fernandes et al., 2016). В свое изследване при овце СПБМ Laleva et al. (2021) откриват фенотипни корелации между живото тегло, ОТС и телесни измервания. В предишно наше изследване (Metodiev et al., 2021) направихме опит да оценим стойностите на някои кръвни параметри на овцете от породата *Ile de France* според оценката на телесното им състояние. Установено е, че ОТС повлиява значимо RBC

($P < 0.01$), HCT ($P < 0.05$) и HGB ($P < 0.05$). Данните предполагат, че нивата на хематокрит са важен определящ фактор за постигане на по-благоприятна пропорция на животни с оптимална спрямо ниска ОТС в стадото, особено при наличие на неблагоприятни фактори като заразяване с паразити и предполагаемо недохранване. Много изследвания доказват ценния прогностичен ефект от пълната кръвна картина (ПКК) и по-специално, нивата на еозинофилните левкоцити в резистентността към инфекции с гастроинтестинални нематоди (GIN) както при естествено, така и при експериментално заразени овце (Jenvey et al., 2020).

Решаващ приоритет е да се определят стандартните параметри за нестресирани животни, отглеждани във всяка отделна страна и/или географска и климатична зона, като се изгради референтна таблица с местни данни на хематологични показатели, която периодично да се актуализира, за да се направи правилно сравнението (Bezerra et al., 2010, Greguła-Kania et al., 2021). От друга страна, проучването на литературни източници, свързани с влиянието на екстремни стойности на екологичните фактори върху хематологичните и биохимични показатели могат да дадат ценна информация за адаптационните възможности на дадена порода. Подобен профил на породата *Avasi* в Йордания правят Jawasreh et al. (2009), които фиксират вариациите в кръвните параметри при изследваните животни поради няколко фактора като надморска височина, управление, ниво на хранене, възраст, пол, порода, здравословно състояние, метод на събиране на пробите, използвани хематологични техники, дневни и сезонни колебания на температурата на околната среда и физиологичен статус на животното като целите на това проучване са били да се оцени ефектът от интензивен подбор и генетична манипулация на нормални хематологични и биохимични стойности при здрави възрастни, небременни овце-майки.

В контекста на цитираните по-горе изследвания целта на настоящото проучване беше да се оценят стойностите на някои кръвни параметри – брой еритроцити (RBC), хематокрит (HCT), хемоглобин (HGB), средна концентрация на корпускулярен хемоглобин (MCHC), среден корпускулярен хемоглобин (MCH), среден корпускулярен обем на еритроцитите (MCV) и брой еозинофилни левкоцити (EOS) на четири стада овце от Синтетична популация българска млечна (СПБМ), отглеждани на различна надморска височина (391, 548, 715 и 940 m н.в), в зависимост от оценката на телесното им състояние (ОТС) и наличието на стомашно-чревни паразити.

Материал и методи

Изследването бе проведено в четири овцеферми на Софийска област на различна надморска височина /н.в./ -с. Равнище /Р./ (391 m н.в.), експерименталната база на ИЖН-Костинброд /И./ (548 m н.в.), с. Мирково /М./ (715 m н.в.) и с. Боснек /Б./ (940 m н.в.) през юни 2022 г. И четирите стада овце СПБМ (възраст 1,5-7,5 г.) бяха отглеждани оборно-пасищно през периода на пробовземане, с почти идентично по качество и количество подхранване с концентрирани фуражи (малко по-добро в И.), овцете се дояха двукратно, а агнетата бяха в процес на постепенно отбиване (пускани при майките след доене). Кампанията по стриждбата на стадата е била проведена преди повече от една седмица преди взимането на пробите. От всички овце в съответните стада бяха избрани представителни извадки (Р.- 58, И. – 61, М. – 17 и Б. - 34 животни), на които бяха взети кръвни проби чрез югуларна венопункция в епруветки с антикоагулант EDTA, които са транспортирани в термоизолиран съд при температура +4 °C. Оценката на телесното

състояние се извърши по време на пробовземането от един човек по адаптираната система на Jeffreies от Todorov et al. (1994).

Бяха събрани и пресни фекални проби (сборна проба) за паразитологична диагностика (копроовоскопия и копроларвоскопия). За детекция на леки хелминтни яйца и ооцисти използвахме флотационния метод на Фюлеборн, за тежки – последователни утаявания, а за ларвоскопия - модифицирания метод на Берман. За определяне на степента на извазия при наличието на такава, приложихме модифициран метод на Мак Мастър. Родовата идентификация извършихме след култивиране на фекалиите по конвенционална методика и последващо изолиране по Берман (Kanchev et al., 2016; Zajac and Conboy, 2012).

Анализът на кръвта беше извършен с 5-Part-Diff Automated Hematology Analyzer (лазерен многоизмерен хематологичен анализатор) URIT-5160, който позволява едновременно определяне на 34 хематологични параметри: WBC, LYM%, MON%, NEU%, EOS%, BAS%, LYM#, MON#, NEU#, EOS#, BAS#, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW_ CV, RDW_ SD, PLT, MPV, PDW, PCT, P_ LCR, P_ _LCC, RETIC%, RETIC_ _ABS, IRF. Методиките, чрез които работи анализаторът по отношение на параметрите, включени в настоящото изследване са: RBC/PLT анализ - по импедансен метод и HGB тест - колориметрия с реагент без цианиди.

Резултатите са изразени като средноаритметични стойности $\pm$ S.E.M. и бяха анализирани статистически чрез метода анализ на дисперсията (ANOVA). За целите на изследването бяха допълнително съпоставени и сравнени сформирани подгрупи от по 10 животни всяка (по 5 в с. Мирково) – тези, показали най-високите и най-ниските стойности на хематокрит при анализа на пробите – така, както сме процедирали и в предишни наши изследвания поради тясното генетично детерминирано индивидуално вариране на този показател.

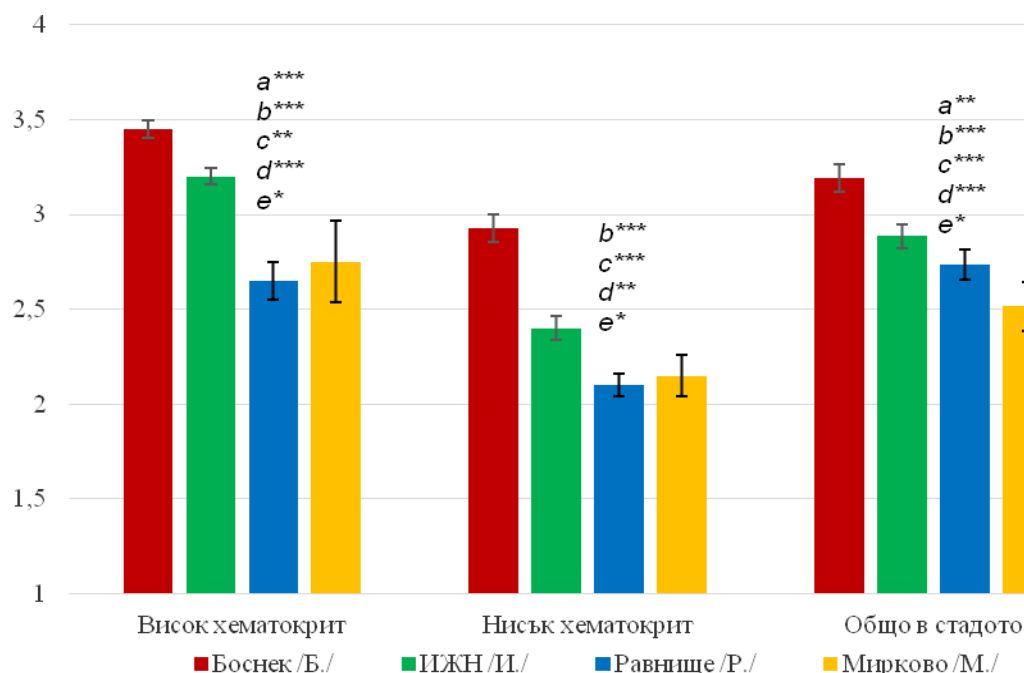
Резултати и обсъждане

При паразитологичното изследване на стадото овце СПБМ на И. не бяха открити инвазии. Пробите от стадото СПБМ в М. бяха положителни за нематоди от род протостронгилус (*Protostrongylus spp.*) /++/ със средна степен на инвазия (200-500 ларви в грам фекална проба), за нематоди от род трихостронгилус (*Trichostrongylus spp.*) /++/ със средна степен на инвазия (500-2000 яйца в грам фекална проба), както и за нематоди от род неостронгилус (*Neoststrongylus spp.*) /+/ със слаба степен на инвазия (50-200 ларви в грам фекална проба). Същите родове нематоди бяха регистрирани и при изследването на пробите от стадото овце СПБМ в Р. – със степен на инвазия съответно /+/ 50-200, /+/ 100-500 и /++/ 200-500 яйца в грам фекална проба. Паразитологичното изследване на пробите от от стадото овце СПБМ в Б. показва наличие на нематоди от род трихостронгилус (*Trichostrongylus spp.*) /+/ със слаба степен на инвазия (100-500 яйца в грам фекална проба) и на нематоди от род остертагия (*Ostertagia spp.*) /+/ също със слаба степен на инвазия (50-200 яйца в грам фекална проба). Паразитологияният статус на изследваните овце показва типична за нашите географски ширини находка от често срещани стомашно-чревни и белодробни нематоди при пасищно и оборно отглеждани животни. Липсват силни инвазии, които биха дали пряко отражение върху клиничния статус и хематологичните показатели на овцете.

Нивата на еозинофилни левкоцити (EOS) в кръвта на животните от четирите стада показват много широко вариране и са както следва: Р. - $0,525 \pm 0,3 \cdot 10^9/L$ (6,9% от пробите са над $1,0 \cdot 10^9/L$), И. - $0,667 \pm 0,58 \cdot 10^9/L$ (27,9% от пробите са над $1,0 \cdot 10^9/L$), М. - $0,838 \pm$

0,412 $10^9/L$ (23,5% от пробите са над 1,0 $10^9/L$) и Б. - $0,626 \pm 0,44$ $10^9/L$ (20,6% от пробите са над 1,0 $10^9/L$), като разликите между стадата не са достоверни. Получените резултати са напълно логични, тъй като еозинофилите участват в имунната хомеостаза и имунитета, намират се както в кръвта, така и в тъканите и увеличен брой еозинофили винаги се регистрира по време на хелминтни инфекции. Способността на еозинофилите да защитават гостоприемника срещу паразитни хелминти се определя от способността им да медирират зависима от антитяло (или комплемент) клетъчна цитотоксичност *in vitro* и *in vivo* (Jenvey et al., 2020). Не винаги обаче само по повишените нива на еозинофилните левкоцити може да се съди директно за инвазия с нематоди, а това е указание за наличието на такава. Така например средните стойности на еозинофилните левкоцити в кръвта на овцете СПБМ от И. са сравнително високи, което заедно с високия процент животни със стойности над 1,0 $10^9/L$ предполага наличието на паразити, а такива не се откриват при паразитологичното изследване. Възможна причина за това е и взимането на сборна, а не индивидуални пресни фекални проби.

Оценката на телесното състояние на овцете СПБМ от стадото в Б. (най-висока н.в.) е достоверно по-добра от това на животните от Р. и М. и в трите групи – общо за стадата ($P < 0,001$) и при групите с висок (съответно $P < 0,001$ и $P < 0,01$) и нисък ($P < 0,001$) НСТ (Фиг. 1). Достоверна е и разликата между Б. и И., но само при групите с висок НСТ ($P < 0,001$) и общо за стадата ($P < 0,01$). Също достоверни разлики открихме при ОТС и между стадото в И. спрямо тези в Р. и М. и при трите групи – общо за стадата (съответно $P < 0,001$ и $P < 0,05$) и при групите с висок (съответно $P < 0,001$ и $P < 0,05$) и нисък (съответно $P < 0,01$ и $P < 0,05$) НСТ. Няма достоверни разлики в ОТС между стадата в Р. и М. между трите групи. От горните данни прави впечатление, че има определена връзка между надморската височина и ОТС, без да може да бъде доказана някаква корелативна зависимост, тъй като стадото овце от И. е с по-добра ОТС от това в М. въпреки по-ниската н.в., т.е. влияние могат да са оказали и други фактори като хранене и технология на отглеждане. Оптималната ОТС преди осеменяването пък трябва да бъде 3,0-3,5 (достигана само при стадата в Б. и И.), тъй като овце с относително по-висока ОТС, в прехода от сезонен анеструс към размножителен сезон показват значително по-висока сексуална активност от другите овце (Forcada and Abecia, 2006). Други автори (Khalil et al., 2022) посочват в свое изследване, че физиологичният, биохимичният, хематологичният статус и продуктивността на овце Naеemі в Кувейт са повлияни освен от сезоните също и от оценката на телесното им състояние.

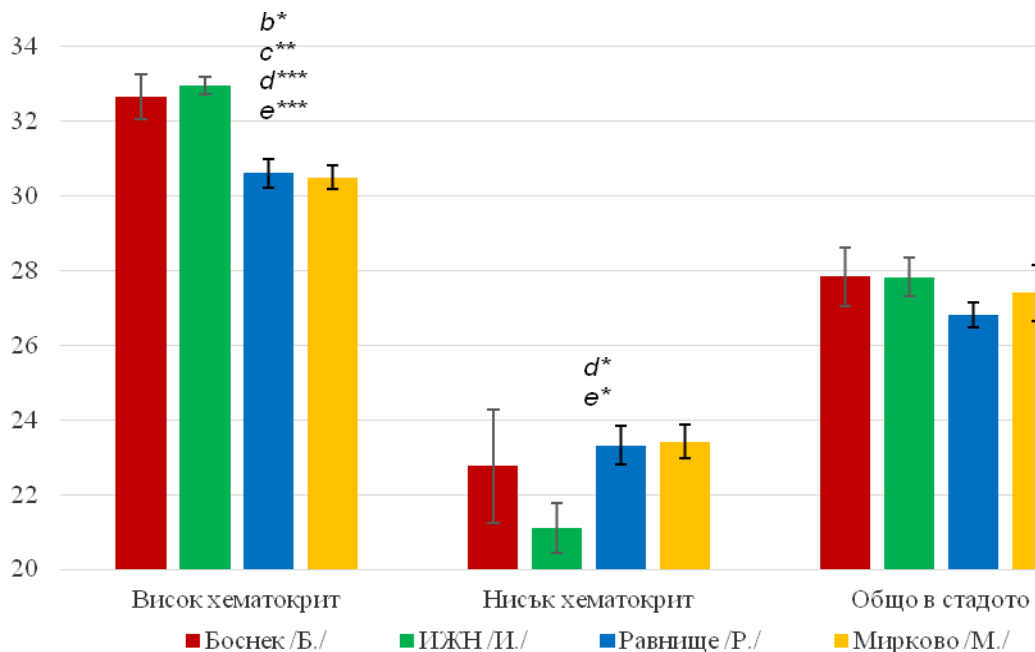


Фиг. 1: ОТС в четири стада овце СПБМ (ранг 1-5)

- a - достоверна разлика между Боснек и ИЖН
- b - достоверна разлика между Боснек и Равнище
- c - достоверна разлика между Боснек и Мирково
- d - достоверна разлика между ИЖН и Равнище
- e - достоверна разлика между ИЖН и Мирково

Нивата на хематокрит при овцете СПБМ от стадата в Б. и И. в групата с висок НСТ поотделно са достоверно по-високи спрямо тези на животните от Р. (съответно $P < 0,05$ и $P < 0,001$) и М. (съответно $P < 0,01$ и $P < 0,05$) подобно на резултатите за ОТС (Фиг. 2). При групата с нисък НСТ овцете от И. имат също достоверно по-висок НСТ от тези в Р. и М. - $P < 0,05$. Няма достоверни разлики в нивата на НСТ общо в стадото между четирите стада овце СПБМ. Резултатите са в асонанс с очакваните по-високи нива на НСТ при овцете СПБМ в Б., отглеждани на по-голяма надморска височина, понеже там, освен хипоксия, има и излагане на по-ниска температура на околната среда, особено скоро след кампанията по стрижбата. По-високите нива на НСТ при животните в И. (близки до тези в Б.) и достоверно по-високи от тези в М. (отглеждани на по-голяма н.в.) обаче не може да бъде свързана с надморската височина. Възможно логично обяснение на това явление намираме в изложените по-горе резултати за ОТС, които предполагат по-засилен метаболизъм при овцете от И. за неговото поддържане, респ., на нужда от повече кислород за метаболитните процеси. Дихателната система на овцете в Б. естествено би трябвало да е повлияна от други екологични фактори поради респираторната загуба на топлина, свързана с увеличаване на вентилацията по време на хипоксия (Mortola and Frappell, 2000). Хематологичната адаптация към голяма надморска височина е свързана с

повишаване на стойностите на хематокрита, което се дължи на изместването на водата от съдовата система (Mason, 2000; McArdle et al., 2010).



Фиг. 2: Нива на НСТ в четири стада овце СПБМ (%)

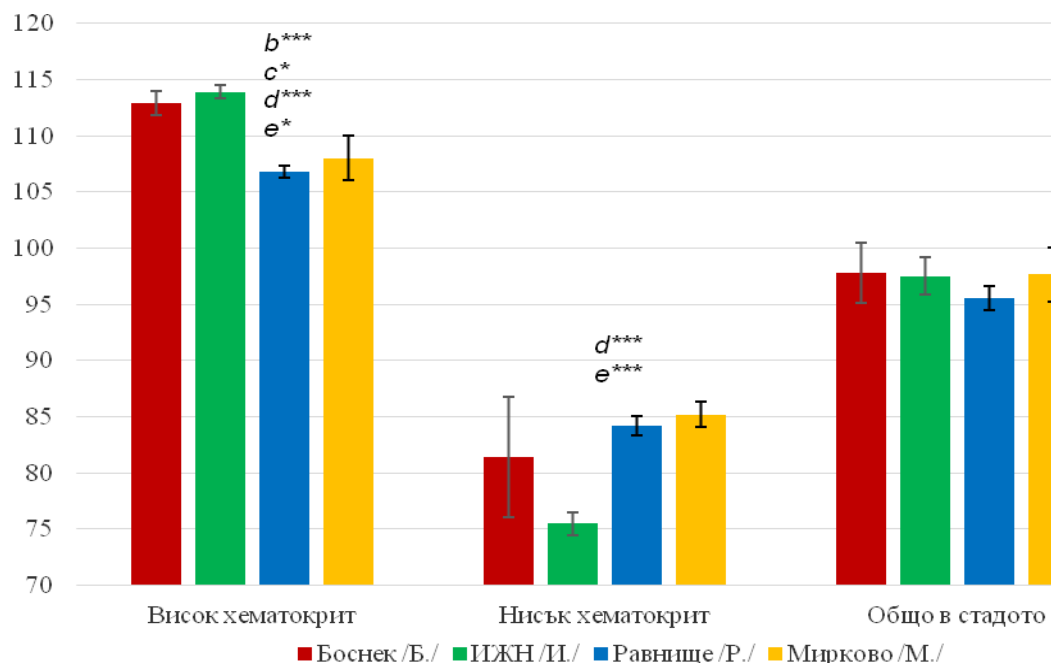
b - достоверна разлика между Боснек и Равнище

c - достоверна разлика между Боснек и Мирково

d - достоверна разлика между ИЖН и Равнище

e - достоверна разлика между ИЖН и Мирково

Бързото намаляване на плазмения обем на еритроцитите води до повишаване на концентрацията на хемоглобина, което позволява на тялото да компенсира зависимия от кислород енергиен дефицит (Mason, 2000; Stark and Schuster, 2012). След определен период от време, въпреки продължаващото увеличаване на еритропоезата и масата на червените кръвни клетки, концентрацията на хемоглобин обаче започва да се задържа на своеобразно плато поради увеличаването на плазмения обем (Mason, 2000). Следователно, като се вземе предвид гореспоменатото, може да предположим, че в случая с овцете в Б. не става въпрос за краткотрайна адаптация след транспортиране на по-голяма надморска височина, а за вече протекла аклиматизация към нея.



Фиг. 3: Нива на HGB в четири стада овце СПБМ (g/L)

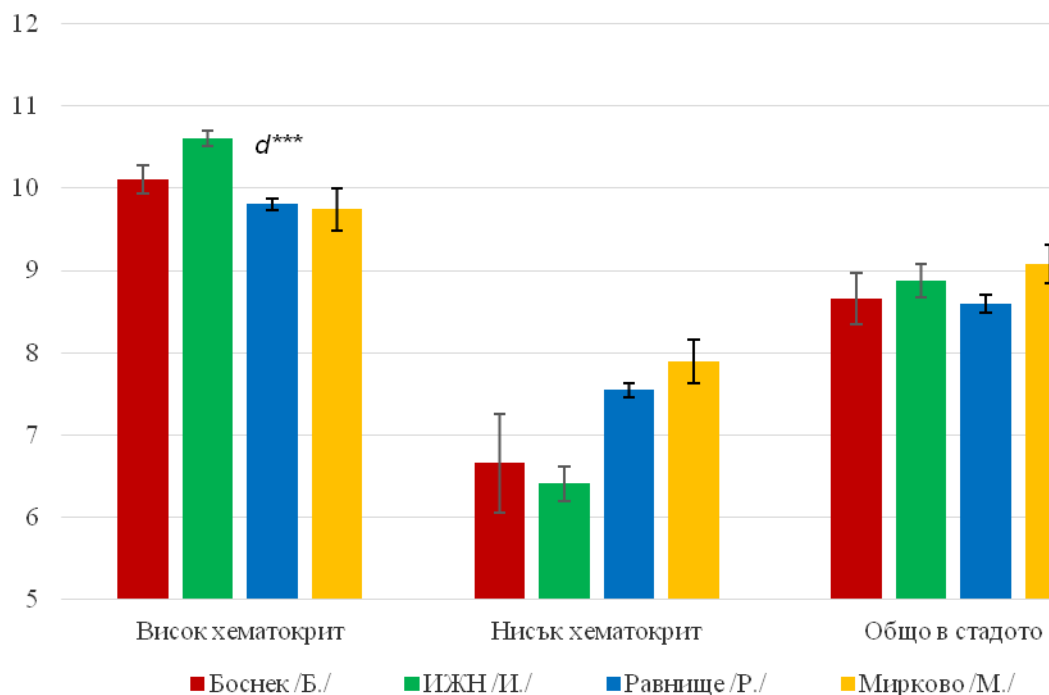
b - достоверна разлика между Боснек и Равнище

c - достоверна разлика между Боснек и Мирково

d - достоверна разлика между ИЖН и Равнище

e - достоверна разлика между ИЖН и Мирково

Същите разлики и тенденции, които коментирахме по-горе логично се наблюдават и по отношение на хемоглобина /HGB/ и броя на червените кръвни клетки /RBC/ (Фиг. 3 и Фиг. 4). Нивата на HGB при овцете СПБМ от стадата в Б. и И. в групата с висок НСТ поотделно са също достоверно по-високи спрямо тези на животните от Р. ($P < 0,001$) и М. ($P < 0,05$). При групата с нисък НСТ овцете от И. отново имат достоверно по-висок HGB от тези в Р. и М. - $P < 0,05$. Определено впечатление обаче прави достоверно по-високият брой RBC на овцете СПБМ от И. спрямо тези от Р. при групата с висок НСТ ($P < 0,001$), което е и единствената достоверна разлика. Това е директно указание за повишена концентрация на HGB в еритроцитите на животните от И. и също подкрепя горната ни хипотеза за повишен метаболизъм. Има доказателства, че глюкокортикоидите участват в еритропоезата и имат потенциал да стимулират пролиферацията на еритроидни клетки в присъствието на ограничени количества еритропоетин. Те стимулират индиректно еритропоезата чрез увеличаване на производството на еритропоетин в бъбреците. Повишената еритроидна пролиферация и спирането на диференциацията води до повишено производство на незрели червени кръвни клетки (Luger et al., 2003).

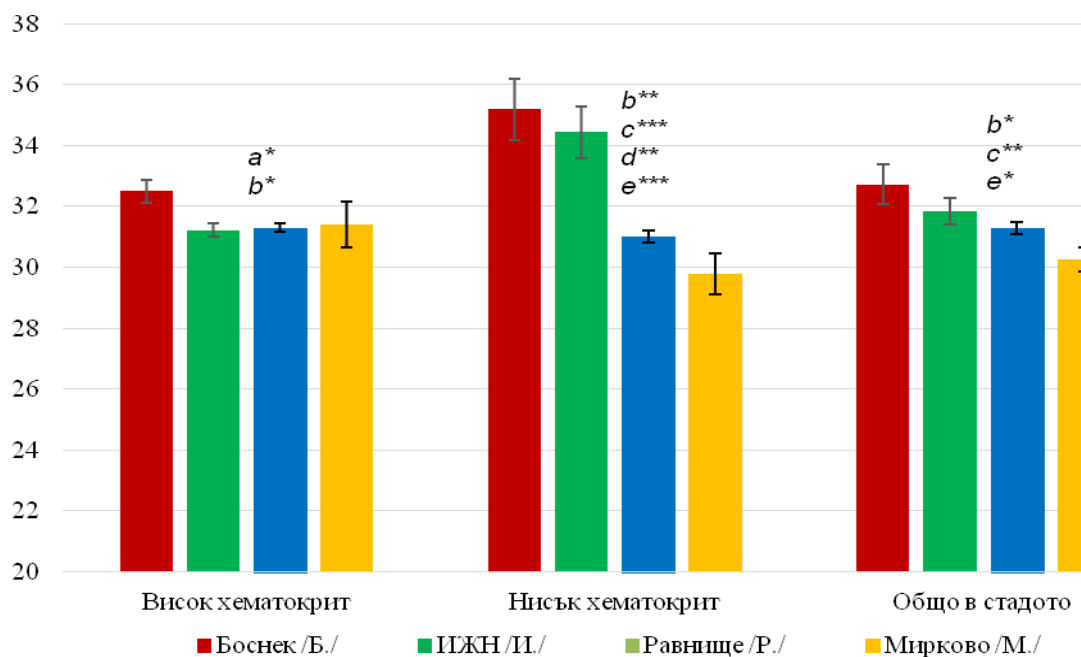


Фиг. 4: RBC в четири стада овце СПБМ ($10^{12}/L$)

d - достоверна разлика между ИЖН и Равнище

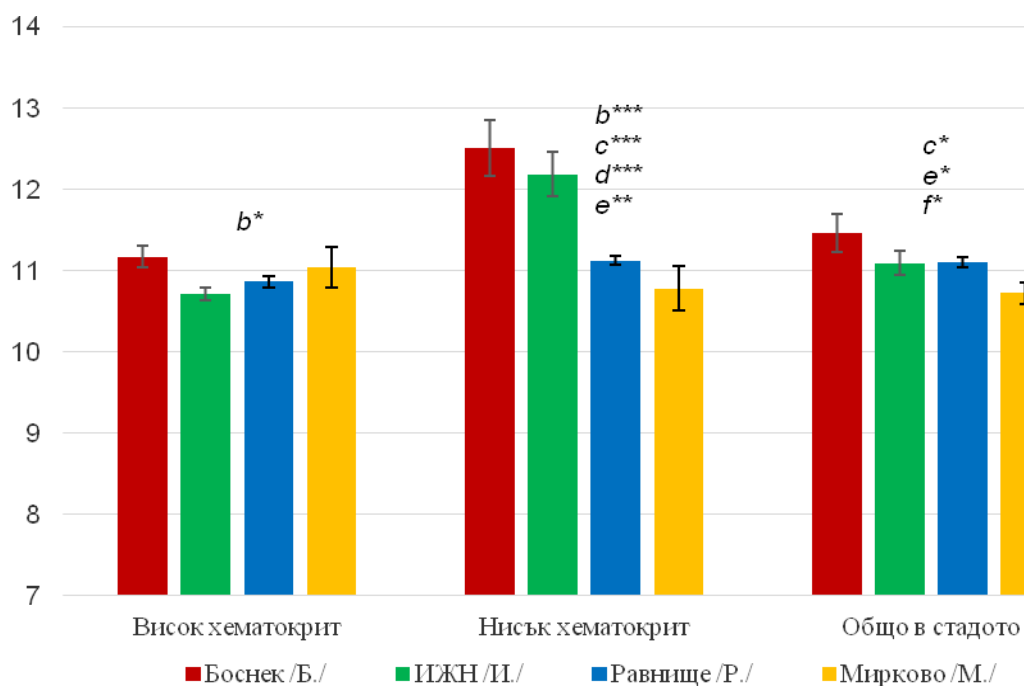
Достоверни разлики при показателя среден корпускулярен обем на еритроцитите (MCV) при групите с висок НСТ има между стадата СПБМ в Б. и И. и между Б. и Р. – $P < 0,05$, докато при останалите стада стойностите са изравнени (Фиг. 5). Между същите стада има достоверни разлики и при групите с нисък НСТ – съответно $P < 0,01$ и $P < 0,001$, но вече достоверни разлики при тези групи има и между стадата СПБМ в И. и Р. ($P < 0,01$) и И. и М. ($P < 0,001$). Тук вече откриваме достоверни разлики и при групите общо за стадата между Б. и Р. ($P < 0,05$), между Б. и М. ($P < 0,01$) и между И. и М. ($P < 0,05$). Нисък MCV (наречен микроцитоза) значи, че червените кръвни клетки са малки, а висок MCV (наречен макроцитоза) означава, че те са големи, но нивата на този показател, вкл. отклоненията, са плътно около средните референтни стойности за овце, при границите, съобщавани в книгата на Radostits et al, (2000) – 28-40 f/L, т.е. при всички изследвани стада не може да става дума за никакви аномалии.

Аналогични са резултатите и за средния корпускулярен хемоглобин (MCH) като достоверна разлика при групите с висок НСТ има само между стадата СПБМ в Б. и Р. – $P < 0,05$ (Фиг. 6). Същите достоверни разлики както при MCV при групите с нисък НСТ, за MCH обаче установяваме отново между стадата в Б. и Р., Б и М., И. и Р. – $P < 0,001$ и И. и М. - $P < 0,01$. В групите общо за стадата СПБМ отново има достоверни разлики



Фиг. 5: Нива на MCV в четири стада овце СПБМ (fL)

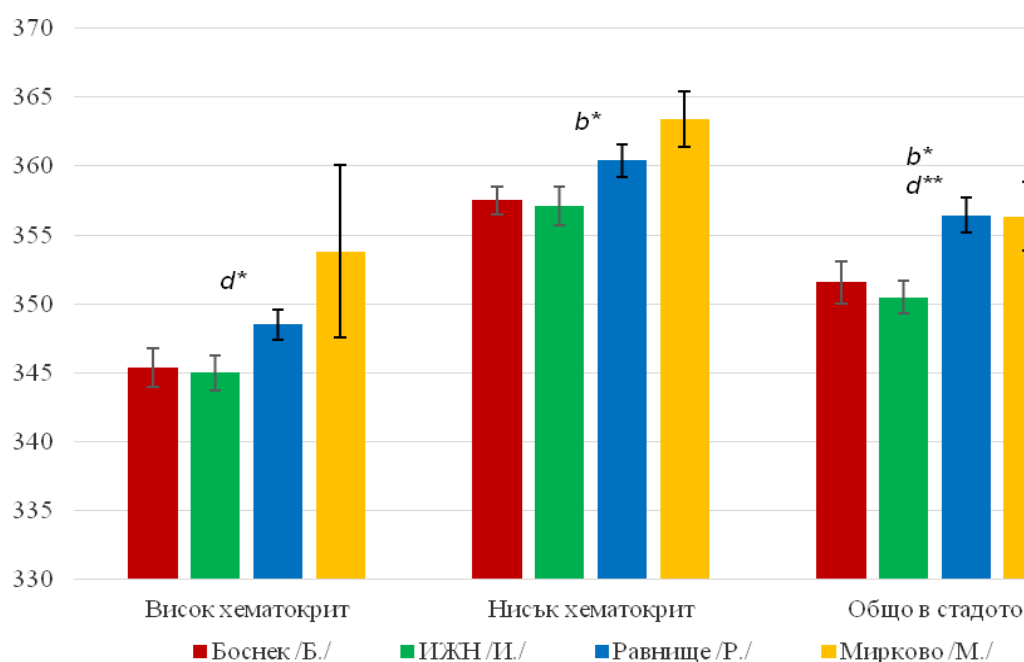
- а - достоверна разлика между Боснек и ИЖН
- б - достоверна разлика между Боснек и Равнище
- с - достоверна разлика между Боснек и Мирково
- д - достоверна разлика между ИЖН и Равнище
- е - достоверна разлика между ИЖН и Мирково



Фиг. 6: Нива на MCH в четири стада овце СПБМ (pg)

b - достоверна разлика между Боснек и Равнище
c - достоверна разлика между Боснек и Мирково
d - достоверна разлика между ИЖН и Равнище
e - достоверна разлика между ИЖН и Мирково
f - достоверна разлика между Равнище и Мирково

($P < 0,05$) между животните от Б. и М., И. и М., но и за първи път между тези в Р. и М. В контекста на дискусията по-горе по отношение на хематокрита отново стигаме до извода, съобщаван от Mason, 2000 за задържане на концентрацията на хемоглобина при увеличен обем на еритроцитите като указание за завършен аклиматизационен процес към екологичния фактор «надморска височина». И за МСН трябва да отбележим, че стойностите са също около средните референтни стойности за овце (Radostits et al, 2000). Тенденциите при всички дискутирани досега показатели определено резултира при показателя средна концентрация на корпускулярен хемоглобин (МСНС), където обаче има по-малко достоверни разлики (Фиг. 7). В групите с висок НСТ такава има само между овцете СПБМ в И. и Р. ($P < 0,05$), при групите с нисък НСТ между животните в Б. и Р. ($P < 0,05$), а в групите общо за стадата също между И. и Р. ($P < 0,01$) и Б. и Р. ($P < 0,05$).



Фиг.7: Нива на МСНС в четири стада овце СПБМ (g/L)

b - достоверна разлика между Боснек и Равнище
d - достоверна разлика между ИЖН и Равнище

Средната концентрация на хемоглобин в еритроцитите (МСНС) е показател за установяване на концентрацията на хемоглобин в червените кръвни клетки. Тъй като хемоглобинът е молекулата, към която се свързва кислородът, МСНС е мярка за средният капацитет за пренасяне на кислород на червените кръвни клетки, циркулиращи в организма. Ниските стойности на МСНС (хипохромия) може да означават, че има по-

ниска концентрация на хемоглобин в рамките на даден обем червени кръвни клетки и, следователно, намален капацитет за пренасяне на кислород до тъканите на тялото. Високите стойности на МСНС (хиперхромия) може да означават, че има по-висока от обикновено концентрация на хемоглобин в червените кръвни клетки. Стойността на МСНС е от полза при диагностицирането на анемия, но се използва и тълкува задължително заедно с броя на червените кръвни клетки и други стойности в пълната кръвна картина (ПКК), свързани с червените кръвни клетки, като средния обем на еритроцитите (MCV) и ширината на разпределение на червените кръвни клетки (RDW), за правилното диагностициране на различни здравословни проблеми. В този контекст, съобразно с останалите изследвани хематологични показатели установените от нас нива на МСНС могат да бъдат указание за специфична адаптивна реакция на организма на овцете СПБМ от М. и Р. чрез повишена синтеза на хемоглобин, въпреки че те са отглеждани на по-ниска надморска височина. В заключение можем да отбележим, че изследваните от нас хематологични показатели след диференцирането и на подгрупи овце по отношение на нива на хематокрита могат да дадат ценна научна информация за реакцията на животните към фактора „надморска височина“ при различна оценка на телесното състояние на изследваните стада от една и съща порода, като се вземе предвид и влиянието на останалите съотносими стрес фактори за сезона като стрижба и температурни разлики, наличието на паразити, както и макар и малките различия в технологиите на хранене и отглеждане.

Изводи

- ОТС на овцете СПБМ от стадото в Б. (най-висока н.в.) е достоверно по-добра от това на животните от Р. и М. и в трите групи – общо за стадата ($P < 0,001$) и при групите с висок (съответно $P < 0,001$ и $P < 0,01$) и нисък ($P < 0,001$) НСТ. ОТС на овцете от стадото СПБМ на И., предвид липсата на стомашно-чревни паразити и малко по-доброто подхранване с концентриран фураж е по-добра от това на животните от М. и Р. и при трите групи – общо за стадата (съответно $P < 0,001$ и $P < 0,05$) и при групите с висок (съответно $P < 0,001$ и $P < 0,05$) и нисък (съответно $P < 0,01$ и $P < 0,05$) НСТ. Достоверна е и разликата между Б. и И., но само при групите с висок НСТ ($P < 0,001$) и общо за стадата ($P < 0,01$). Няма достоверни разлики в ОТС между стадата в Р. и М. между трите групи;
- Нивата на НСТ при овцете СПБМ от стадата в Б. и И. в групата с висок НСТ поотделно са достоверно по-високи спрямо тези на животните от Р. (съответно $P < 0,05$ и $P < 0,001$) и М. (съответно $P < 0,01$ и $P < 0,05$). При групата с нисък НСТ овцете от И. имат също достоверно по-висок НСТ от тези в Р. и М. - $P < 0,05$. Няма достоверни разлики в нивата на НСТ общо в стадото между четирите стада овце СПБМ;
- Нивата на HGB при овцете СПБМ от стадата в Б. и И. в групата с висок НСТ поотделно са също достоверно по-високи спрямо тези на животните от Р. ($P < 0,001$) и М. ($P < 0,05$). При групата с нисък НСТ овцете от И. имат достоверно по-висок HGB от тези в Р. и М. - $P < 0,05$. Откроява се достоверно по-високия брой RBC на овцете СПБМ от И. спрямо тези от Р. при групата с висок НСТ ($P < 0,001$), което е и единствената достоверна разлика;

- Аналогични са резултатите и за МСН като достоверна разлика при групите с висок НСТ има само между стадата СПБМ в Б. и Р. – $P < 0,05$. Същите достоверни разлики при групите с нисък НСТ, за МСН установяваме отново между стадата в Б. и Р., Б и М., И. и Р. – $P < 0,001$ и И. и М. – $P < 0,01$. В групите общо за стадата СПБМ отново има достоверни разлики ($P < 0,05$) между животните от Б. и М., И. и М., но и между тези в Р. и М;
- При МСНС в групите с висок НСТ достоверна разлика има само между овцете СПБМ в И. и Р. ($P < 0,05$), при групите с нисък НСТ между животните в Б. и Р. ($P < 0,05$), а в групите общо за стадата също между И. и Р. ($P < 0,01$) и Б. и Р. ($P < 0,05$).

Differences in some hematological parameters in four herds of Bulgarian milk sheep breed influenced by certain environmental factors

Ivan Yanchev^{1*}, Nikola Metodiev¹, Kostadin Kanchev², Penka Moneva¹, Maya Ignatova¹

Abstract

The aim of the present study is to evaluate the values of some blood parameters - erythrocyte count (RBC), hematocrit (HCT), hemoglobin (HGB), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular volume of the erythrocytes (MCV) and eosinophil leukocyte count (EOS) of four herds of sheep from the Synthetic Bulgarian Dairy Population (SPBM) reared at different altitudes, depending on their body condition score (BSC) and the presence of parasites. The research was carried out in different sheep farms of the Sofia region - the village of Ravnishte /R./ (391 m above sea level), the experimental base of the IAS- Kostinbrod /I./ (548 m above sea level), the village of Mirkovo /M. / (715 m above sea level) and the village of Bosnek /B./ (940 m above sea level) in June 2022. From the four herds of sheep (age 1.5-7.5 years) representative animals were selected (from 58, 61, 17 and 34 animals, respectively) from which blood samples were taken. Body condition score was performed during sampling by one individual using an adapted system. Fresh faeces (total sample) were also collected for parasitological tests (coproovoscopy and coprolarvoscopy). Blood analysis was performed with a 5-Part-Diff Automated Hematology Analyzer.

The BCS of the SPBM sheep from the flock in B. (highest altitude) was significantly better than that of the animals from R. and M. in all three groups - in general for the herds ($P < 0.001$) and in the groups with high ($P < 0.001$ and $P < 0.01$, respectively) and low ($P < 0.001$) HCT. BCS of the sheep from the SPBM herd of I., given the absence of gastrointestinal parasites and slightly better nutrition with concentrated feed, is better than that of the animals from M. and R. in all three groups - common to the herds (respectively $P < 0.001$ and $P < 0.05$) and in the high ($P < 0.001$ and $P < 0.05$, respectively) and low ($P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively) HCT groups. The difference between B. and I. is also reliable, but only in the groups with high HCT ($P < 0.001$) and in general for the herds ($P < 0.01$). There were no significant differences in BCS between the herds in R. and M. between the three groups. The levels of HCT in the SPBM sheep from the herds in B. and I. in the group with high HCT separately were significantly higher than those of animals from R. (respectively $P < 0.05$ and $P < 0.001$) and M. (respectively $P < 0.01$ and $P < 0.05$). In the group with low HCT, the sheep from I. also had a significantly higher HCT than those from R. and M. - $P < 0.05$. There were no significant differences in herds total HCT levels

between the four SPBM sheep herds. The levels of HGB in the SPBM sheep from the B. and I. herds in the high HCT group separately were also significantly higher than those of the R. ($P<0.001$) and M. ($P<0.05$) animals. In the group with low HCT, sheep from I. have significantly higher HGB than those from R. and M. - $P<0.05$. The significantly higher number of RBC of the SPBM sheep from I. compared to those from R. stands out in the group with high HCT ($P<0.001$), which is the only significant difference. The results are similar for MCH, as a significant difference in the groups with high HCT is only between the SPBM herds in B. and R. - $P<0.05$. The same significant differences in the groups with low HCT, for MSN we found again between the herds in B. and R., B and M., I. and R. - $P<0.001$ and I. and M. - $P<0.01$. In the groups in general for the SPBM herds, there are again significant differences ($P<0.05$) between the animals from B. and M., I. and M., but also between those in R. and M. About MCHC in the groups with high HCT, significant there is a difference only between the SPBM sheep in I. and R. ($P<0.05$), in the groups with low HCT between the animals in B. and R. ($P<0.05$), and in the groups as a whole for the herds also between I. and R. ($P<0.01$) and B. and R. ($P<0.05$).

Keywords: Hematocrit, hematological parameters, altitude, BCS, gastrointestinal and pulmonary parasites, sheep, Bulgarian milk sheep breed

Литература

- Ahmadi-hamedani, M., K. Ghazvinian, N. Atyabi, P. Khanalizadeh, M.A. Masoum and M.S. Ghodrati (2016): Hematological reference values of healthy adult Sangsari sheep (Iranian fat-tailed sheep) estimated by reference value advisor. *Comparative Clinical Pathology*. 25(2):459-464.
- Al-Samarai, F. R. and W.A.H. Al-Jbory (2017): Effect of some environmental factors on hematological parameters in apparently healthy Iraqi Awassi sheep. *Journal of Entomology and Zoology Studies*; 5(3): 1668-1671
- Badawi N.M. and H.A.H. Al-Hadithy (2014): The hematological parameters in clinically healthy Iraqi Awassi sheep. *World's Vet. J.*; 4(1):01-05
- Barsila, S.R., K. Bhatt, B. Devkota and N.R. Devkota (2020): Haematological changes in transhumant Baruwal sheep (*Ovis aries*) grazing in the western Himalayan mountains in Nepal. *Pastoralism* 10, 4
- Bezerra, L.R., W.D.C Oliveira, T.P.D. Silva, J.N.C. Torreão, C.A.T. Marques, M.J. Araújo, R.L. Gilany, K. and M. Vafakhah (2010): Hypoxia: a Review. *Journal of Paramedical Sciences (JPS)*, 1 (2): 43-60
- Boychev, K., K. Tsenova and Z. Schindarska (2011¹): Variability of the number of erythrocytes in sheep blood. II. General evaluation of the interaction of breed and seasonal differentiation. *Bulgarian Journal of Animal Husbandry*, Vol.48 No.5 pp.47-52
- Boychev, K., G. Krumova and K. Tsenova, (2011²): Dynamics of the hematocrit in sheep blood. I. Breed variability. *Bulgarian Journal of Animal Husbandry*, Vol.48 No.2 pp.32-37
- Dimova, N., I. Ivanova, J. Peeva, M. Djorbineva and M. Michailova (2010): Link between the body condition score and productivity of the sheep from Bulgarian dairy synthetic population, *Bulgarian Journal of Animal Husbandry*, 2, 14-21

- Evans, J. and J.H. Whitlock (1964): Genetic Relationship between Maximum Hematocrit Values and Hemoglobin Type in Sheep. *Science*, 145(3638):1318
- Fernandes, A. F. A., J. A. Oliveira, and S. A. Queiroz (2016): Body condition score in ruminants. *Ars Veterinaria*. 32.1: 55-66
- Forcada, F., J. A. Abecia (2006): The effect of nutrition on the seasonality of reproduction in ewes. *Rerod. Nutr. Dev.*, 46: 355-365
- Greguła-Kania, M., U. Kosior-Korzecka, A. Hahaj-Siembida, K. Kania, N. Szyslak and A. Junkuszew (2021): Age-Related Changes in Acute Phase Reaction, Cortisol, and Haematological Parameters in Ewes in the Periparturient Period. *Animals* 11, no. 12: 3459
- Jawasreh, K., F. Awawdeh, I. Z. Ban, O. Al-Rawashdeh and A. Al-Majali (2009): Normal Hematology and Selected Serum Biochemical Values in Different Genetic Lines of Awassi Ewes in Jordan. *The Internet Journal of Veterinary Medicine*, V. 7 No 2: 1-5
- Jenvey, C., D. Alenizi, F. Almasi, C. Cairns, A. Holmes, S. Sloan and M. Stear (2020): Bioinformatic analysis of eosinophil activity and its implications for model and target species. *Parasitology*, 147(4), 393–400
- Kanchev, K., V. Radev, Y. Kamenov (2016): Manual for practical lessons in Veterinary Parasitology. University of Forestry publisher, Sofia, ISBN 978-954-332-142-1, 287 pp, <http://unicat.nalis.bg/Record/BAS.000507670>
- Kenyon, P., S. Maloney and D. Blache (2014): Review of sheep body condition score in relation to production characteristics. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 57, 1, 38–64
- Khalil, F., H. Yapati, Z. Al Blallam, R. Jose (2022): Seasonal effects on growth, physiology, hematology and biochemical profiles of Naeemi sheep breed. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 10: 2161-2170
- Laleva, S., N. Dimova, Y. Popova, D. Miteva, P. Slavova, and S. Slavova (2021): Live weight, Body condition score, body dimensions, and phenotypic correlations between them in sheep of Bulgarian dairy synthetic population. *Agricultural Science and Technology*. V. 13, No 2, pp 141-146
- Luger, D., D. Shinder, D. Wolfenson and S. Yahav (2003): Erythropoiesis regulation during the development of ascites syndrome in broiler chickens: A possible role of corticosterone. *J. Anim. Sci.*, 81: 784-790
- Macrae, A. (2017): Interpreting blood haematology/biochemistry in cattle and sheep in the field. *Livestock Science*, 22(1), 28-32
- Mason, N. P. (2000): The physiology of high altitude: an introduction to the cardio-respiratory changes occurring on ascent to altitude. *Current Anaesthesia & Critical Care*, 11 (1): 34-41
- McArdle, W. D., F. I. Katch and V. L. Katch (2010): Exercise at medium and high altitude, In: *Exercise Physiology: Nutrition, Energy, and Human Performance*, Lippincott Williams & Wilkins, chapter 24: 592-608
- Metodiev, N., P. Moneva, I. Yanchev and K. Kanchev (2021): Hematological status of Ile de France sheep depending on their body condition score. *Proceedings in 13th International*

Symposium Modern Trends in Livestock Production, October 6 – 8, 2021, Belgrade, pp. 96-102, ISBN 978-86-82431-77-0

Moneva, P., I. Yanchev, M. Dyavolova and D. Gudev (2016): Hematocrit as a potential marker of acclimatization capacity and stress sensitivity in sheep exposed to transport and high altitude. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 22 (No 6) 2016, 999–1005

Mortola, J. P. and P. B. Frappell (2000): Ventilatory responses to changes in temperature in mammals and other vertebrates. Annu. Rev. Physiol., 62: 847-874

Nedeva, I., T. Slavov, I. Varlyakov, V. Radev and D. Panayotov (2019): Haematological and blood biochemical parameters in Lacaune dairy sheep. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 25(Supp 1), 91–95

Pieragostini, E., C. Dario and G. Bufano, 1994. Hemoglobin phenotypes and hematological factors in Lecce sheep, Small Ruminant Research; 13 (2): 177-185

Radostits, O.M., C.C. Gay, D.C. Blood, and K.W. Hinchcliff (2000): Veterinary Medicine, 9th edn, W.B. Saunders, London, pp. 1819–1822

Rahman, M. K., S. Islam, J. Ferdous, M. H. Uddin, M. B. Hossain, M. M. Hassan and A. Islam (2018): Determination of hematological and serum biochemical reference values for indigenous sheep (Ovis aries) in Dhaka and Chittagong Districts of Bangladesh. Veterinary world, 11(8), 1089–1093

Shirasawa, T., M. Izumizaki, Y. Suzuki, A. Ishihara, T. Shimizu, M. Tamaki, F. Huang, K. Koizumi, M. Iwase, H. Sakai, E. Tsuchida, K. Ueshima, H. Inoue, H. Koseki, T. Senda, T. Kuriyama, and I. Homma (2003): Oxygen affinity of hemoglobin regulates O₂ consumption, metabolism, and physical activity. The Journal of Biological Chemistry, 278 (7): 5035-5043

Slavov, T., D. Panayotov, I. Nedeva, V. Radev and I. Varlyakov (2018): Haematological parameters in Lacaune ewes associated to the parity. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 24(1), 82-87

Šoch, M., J. Brouček and P. Šrejberová (2011): Hematology and blood microelements of sheep in south Bohemia. Biologia/Section Zoology 66/1: 181-186

Stancheva, N. and G. Staykova (2013): Body condition score and productive performance of the Synthetic Population Bulgarian Milk Sheep. Bulgarian Journal of Animal Husbandry, 6, 42-46

Stark, H. and S. Schuster (2012): Comparison of various approaches to calculating the optimal hematocrit in vertebrates. J. Appl. Physiol., 113 (3): 355-367

Todorov, N., Y. Mitev and R. Oztubirov (1994): Body condition score of sheep. Scientific publishing house of the Higher Institute of Zootechnics and Veterinary Medicine, Stara Zagora, ISBN 954-8180-12-X

Zajac, A., G. Conboy (2012): Veterinary Clinical Parasitology, Eighth ed., Wiley-Blackwell, USA