

Животные в условиях интенсивных технологий

УДК 636.4:591.473.31:59.086

doi: 10.15389/agrobiology.2023.2.355rus

**МИКРОСТРУКТУРА МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ У ГИБРИДНЫХ СВИНЕЙ
(*Sus scrofa domestica* L.) ПРИ ИНТЕНСИВНОМ ОТКОРМЕ
ПОД ВЛИЯНИЕМ АДАПТОГЕНОВ***А.А. СЕМЕНОВА¹, Т.Г. КУЗНЕЦОВА¹, В.А. ПЧЕЛКИНА¹, В.В. НАСОНОВА¹,
С.И. ЛОСКУТОВ¹, Н.В. БОГОЛЮБОВА², Р.В. НЕКРАСОВ² ✉

В настоящее время признается экономическая важность улучшения качества свинины при одновременном продолжении наращивания объемов ее производства. Показано, что выбор рациона кормления влияет на характеристики мышечных волокон, а в предупреждении появления и развития миопатических изменений мяса важная роль отводится веществам-адаптогенам, в которых нуждаются животные в период активного роста, — витаминам и биофлавоноидам. В настоящей работе на примере гибридных свиней впервые показано положительное влияние скармливания комплекса адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов Е, С в период откорма на микроструктурные характеристики *musculus Longissimus dorsi*. Цель работы — оценка влияния комплекса адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов Е, С на микроструктурные характеристики мышечной ткани мяса, получаемого от гибридных свиней. Опыты проводили в 2021-2022 годах в ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, ФГНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста и БМПК (Брянская обл.). Для эксперимента отобраны 108 помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F₂ [(крупная белая × ландрас) × дюрок]. Продолжительность периода откорма составляла 58 сут. Поросят разделили на две группы (контрольную и опытную) случайным образом. Контрольная группа получала только комбикорм СК-6. Опытной группе дополнительно давали экспериментальный комплекс адаптогенов (ДКВЕС), содержащий ДКВ (Экостимул-2, АО «Аметис», Россия; содержание ДКВ 72-73 %) в дозе 32 мг/кг корма, витамин Е (ИННОВИТ Е60, ГК «МЕГАМИКС», Россия) — 10 мг/кг корма, витамин С (Тайгер С 35, «Anhui Tiger Biotech Co., Ltd.», Китай) — 35 мг/кг корма. Молодняк взвешивали дважды — на 0-е и 58-е сут. Проводили индивидуальное (по 10 гол. из группы) и групповое взвешивание. После убоя животных определяли массу парной туши, а также убойный выход. Для изучения микроструктуры мышечной ткани через 45 мин после убоя из длиннейшей мышцы спины (*musculus longissimus dorsi*) отбирали образцы размером 3×3×3 см. Образцы фиксировали в 10 % нейтральной забуференном растворе формалина в течение 72 ч при комнатной температуре. Для дальнейшего исследования от каждого образца отбирали два фрагмента размером 1,5×1,5×0,5 см с продольной и поперечной ориентацией мышечных волокон, промывали холодной проточной водой в течение 4 ч и уплотняли в растворах желатина («AppliChem GmbH», Германия) по восходящей концентрации (12,5 %, 25 %) при 37 °С в течение 8 ч в каждом растворе. Серийные срезы толщиной 16 мкм изготавливали на криостатате MIKROM-HM525 («Thermo Scientific», США). Срезы монтировали на стекла Menzel-Glaser («Thermo Scientific», США) и окрашивали гематоксилином Эрлиха и 1 % водно-спиртовым раствором эозина («BioVitrum», Россия). Изучение гистологических препаратов и их фотографирование осуществляли с использованием светового микроскопа AxioImager A1 («Carl Zeiss», Германия; видеокамера AxioCam MRc 5, «Carl Zeiss», Германия). Для морфометрических исследований применяли программу анализа изображений AxioVision 4.7.1.0 («Carl Zeiss», Германия). Диаметр мышечных волокон, длину саркомеров и площадь поперечного сечения гигантских волокон измеряли в интерактивном режиме. При изучении поперечных срезов гистологических препаратов определяли форму мышечных волокон, плотность их расположения, состояние ядер, толщину и состояние соединительнотканых прослоек, выявляли гигантские волокна. На продольных срезах определяли состояние и форму мышечных волокон, состояние сарколеммы, наличие исчерченности (поперечной, продольной), наличие деструктивных изменений (разрывы, трещины, фрагментация), выявляли узлы гиперокрашения. По результатам откорма животных контрольной и опытной групп мы не обнаружили статистически значимых различий по живой массе и убойными показателями, однако гистологические исследования выявили достоверные различия между группами по средним значениям плотности расположения мышечных волокон ($p = 0,02$) и длине саркомеров ($p = 0,000007$). Снижение числа гигантских волокон в образцах от опытной группы почти в 2 раза (11,60 против 21,30 шт/см²) свидетельствовало о существенном улучшении микроструктуры образцов по сравнению с контрольной группой животных, не получавших ДКВЕС. Менее выраженный характер деструктивных изменений сарколеммы в опытной группе также указывал на повышение стрессоустойчивости животных. С учетом значительной вариабельности морфометрических показателей в обеих группах была применена балльная оценка, позволяющая на основании результатов изучения микроструктуры мышечных волокон классифицировать туши по степени выраженности миопатических изменений мышечной ткани. В контрольной группе была только одна туша без признаков миопатии, четыре туши имели признаки умеренной миопатии и пять туш — выраженной миопатии. Напротив, в опытной группе в четырех тушах

* Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-16-00068-П).

признаки миопатии отсутствовали, шесть туш имели признаки умеренной миопатии. При этом в опытной группе не выявили ни одного образца с выраженной миопатией. По среднему числу баллов, характеризующему степень выраженности миопатических изменений мышечной ткани, контрольная и опытные группы статистически значимо различались ($p = 0,004$). Показано, что улучшение микроструктуры мышечной ткани может быть достигнуто за счет использования ДКВЕС *in vivo*, что позволяет сделать вывод о положительном влиянии комплекса адаптогенов на стрессоустойчивость животных и степень гликолиза в мясе.

Ключевые слова: адаптоген, дигидрокверцетин, стресс, молодняк свиней, мышечная ткань, гигантские волокна, узлы сокращений, микроструктура, гистология.

Рост отечественного производства свинины с 799,9 тыс. т в 2010 году до 3254,92 тыс. т в 2021 году был обусловлен переходом отрасли на интенсивное выращивание свиней, которое сопровождалось качественным изменением поголовья — отказом от использования традиционных чистопородных животных. Современное интенсивное свиноводство характеризуется повсеместным распространением гибридных быстрорастущих особей в сочетании с кардинальным изменением условий их содержания и кормления. К основным параметрам интенсивного производства относятся снижение возраста, при котором животные достигают живой массы 100 кг, и высокий среднесуточный прирост массы (1-3). Вместе с тем изменилось качество продуктов убоя, в первую очередь свинины.

Генетический прогресс усилил нагрузку на организм быстрорастущих убойных животных и привел к морфологическим и биохимическим модификациям мышечной ткани, ухудшающим потребительские и технологические характеристики мяса (4). В тушах современных гибридных свиней содержание мышечной ткани превышает 50 % (масс.). Будучи основной и наиболее ценной в пищевом отношении частью туши, мышечная ткань рассматривается как главный компонент, определяющий качество мяса, который формируется в результате мышечного метаболизма до и после смерти животного (5, 6).

Достижения в области интенсивного откорма гибридных свиней привели к появлению патологических особенностей в микроструктуре мышечной ткани, снижающих ценность свиных туш. В качестве основной причины таких изменений рассматривался повышенный стресс, присущий гибридным животным, при транспортировке и предубойном содержании (7). Развитие синдрома стресса свиней приводит к тому, что посмертные окислительно-восстановительные процессы в свинине характеризуются усиленным гликолизом мышечной ткани с получением мяса с признаками PSE (pale, soft and exudative)/миопатии (8). Для такого мяса характерны гистопатологические отклонения в мышцах и появление деструктивных изменений (разрывов сарколеммы), изменение формы мышечных волокон, появление атрофированных, а также гипертрофированных и гигантских волокон (9, 10).

В этой связи в последние годы вновь усилился интерес к изучению микроструктурных характеристик мышечной ткани убойных животных, в том числе типов и свойств мышечных волокон, их плотности и размера (11-13). Доказано, что на характеристики мышечных волокон непосредственно влияют как генетические факторы (породы, линии, гибридизация), так и скорость роста животного и конечная массовая доля мышечной ткани в туше (14, 15). В свою очередь, характеристики мышечной ткани определяют технологическое и потребительское качество свинины, в том числе нежность, сочность и цвет (16). Показана взаимосвязь между быстрым ростом гибридных животных и высокой частотой выявления миопатических изменений мышечной ткани, снижающих качество свинины (17).

Мышечные волокна — ключевые компоненты скелетных мышц, ха-

рактеристики которых существенно влияют на качество мяса (18, 19). Гистологические изменения мышечной ткани приводят к изменению качества мяса (20). Одним из признаков изменения микроструктуры мышечной ткани служит появление гигантских волокон. Установлено, что гигантские волокна обнаруживаются исключительно в посмертных мышцах, и большинство исследователей считают, что они возникают в результате сжатия части мышечных волокон (21-23). Причиной возникновения гигантских волокон становится истощение некоторых волокон еще до убоя и очень быстрое развитие в них *rigor mortis*, в то время как соседние волокна продолжают оставаться в расслабленном состоянии (24, 25).

Для гигантских волокон на поперечных срезах мышц характерна округлая форма и большая площадь поперечного сечения. Наиболее часто они расположены на краю и с меньшей частотой — внутри первичных мышечных пучков (22, 26, 27). Гигантские волокна более интенсивно окрашиваются эозином по сравнению с окружающими нормальными волокнами. На продольных срезах в гигантских волокнах наблюдается от частичной до полной потери структуры миофибрилл в результате гиперконтракции (сверхсокращения) и распада волокна (16, 28). Увеличение количества гигантских волокон связывают с негуманным обращением с животными до убоя (29-31), с генетическим профилем и породой (31, 32). Частота и размер гигантских волокон определяют снижение качества свинины (33, 34).

Тем не менее считается, что гигантские волокна могут не проявляться в мышечной ткани. Например, окружающие волокна могут пассивно удерживать пораженные волокна в растянутом состоянии, не давая им трансформироваться в гигантские. Многие авторы отмечают в качестве важного фактора, определяющего качество мяса, плотность мышечных волокон/общее количество волокон на единице площади среза (18, 19, 34). Этот показатель связан с диаметром мышечных волокон, причем, с одной стороны, особенно желательны волокна меньшего диаметра, поскольку они благоприятно влияют на качество мяса и считаются показателем его нежной структуры (35), с другой — наличие волокон небольшого диаметра может быть признаком мышечной дистрофии (36). Очевидно, что учет значительных отклонений от среднего диаметра мышечных волокон может иметь решающее значение для объективной оценки качества мяса на основе гистологических исследований (37). В этой связи важен комплексный анализ не только гигантских волокон, но и других морфологических характеристик мышечной ткани (22, 25, 26).

В настоящее время признается экономическая важность улучшения качества свинины при одновременном продолжении наращивания объемов ее производства (4). Показано, что выбор рациона влияет на характеристики мышечных волокон (38), а в предупреждении появления и развития миопатических изменений мяса важная роль отводится веществам-адаптогенам, в которых нуждаются животные в период активного роста, — витаминам и биофлавоноидам (39-42). Снижение риска получения мяса низкого качества может быть достигнуто за счет использования адаптогенных препаратов *in vivo*, которые повышают стрессоустойчивость животных и обеспечивают оптимальный гликолиз в мясе (34). Поиск адаптогенов — регуляторов направленного развития мышечной ткани может стать основным способом обеспечения качества мяса при интенсификации его производства.

В настоящей работе на примере гибридных свиней впервые показано положительное влияние скармливания комплекса адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов E, C в период откорма на микроструктурные характеристики *musculus longissimus dorsi*.

Цель работы — оценка влияния комплекса адаптогенов дигидро-кверцетина и витаминов Е, С на микроструктурные характеристики мышечной ткани мяса, получаемого от гибридных свиней.

Методика. Опыты проводили в 2021-2022 годах в ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, ФГНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста и ООО «Брянский мясоперерабатывающий комбинат» (Брянская обл.).

Для эксперимента отобрали 108 помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F₂ [(крупная белая × ландрас) × дюрок]. Живая масса на начало эксперимента — 60-65 кг, возраст — 120 сут. Продолжительность периода откорма составила 58 сут. Эксперименты проводили в соответствии с принципами надлежущей лабораторной практики (43-47).

Все животные находились в одинаковых условиях в пределах зоогиенических норм (48), имели свободный доступ к кормам и воде на протяжении всего периода исследований. Кормление осуществлялось из групповых самокормушек с учетом современных норм (49).

Поросята были случайным образом разделены на две группы (контрольную и опытную, по 54 гол. в каждой). Контрольная группа получала только комбикорм СК-6, сбалансированный по питательным веществам и энергии согласно современным нормам и рекомендованному режиму кормления (49). Опытной группе дополнительно давали экспериментальный комплекс адаптогенов (ДКВЕС), содержащий ДКВ (Экостимул-2, АО «Аметис», Россия; содержание ДКВ 72-73 %) в дозе 32 мг/кг корма, витамин Е (ИННОВИТ Е60, ГК «МЕГАМИКС», Россия) — 10 мг/кг корма, витамин С (Тайгер С 35, «Anhui Tiger Biotech Co., Ltd.», ПВИ-2-2.15/04504, Китай) — 35 мг/кг корма. Смесь ДКВЕС готовили в лабораторных условиях и смешивали с измельченным зерном пшеницы.

В дальнейшем на комбикормовом заводе (ООО «Брянский мясоперерабатывающий комбинат», Брянская обл.) была изготовлена опытная партия комбикорма с добавлением ДКВЕС при соблюдении утвержденных рецептов. Для приготовления комбикормов с адаптогеном расчетное количество комплекса ДКВ и витаминов взвешивали и смешивали с сухими ингредиентами рациона в смесителе, обеспечивая его равномерное внесение. Внесение ДКВЕС в количестве 0,25 кг/т комбикорма СК-6 не влияло на потребление энергии и питательных веществ. Выбор дозировок основывался на ранее полученных собственных данных и обобщении актуальной сведений по проблеме (более полную информацию см. в патенте РФ).

Молодняк взвешивали дважды — перед началом опыта и на 58-е сут. Проводили индивидуальное и групповое взвешивание. Для сравнительного анализа, контрольного убоя и отбора образцов использовали контрольную выборку свиней на откорме по 10 гол. из каждой группы (№№ 1-10). Индивидуальное взвешивание осуществляли при постановке на откорм и перед убоем. Контрольный убой проведен на промышленном предприятии (ООО «Брянский мясоперерабатывающий комбинат»).

Непосредственно перед убоем определяли живую массу (ЖМ) свиней после голодной выдержки. После убоя животных определяли массу парной туши (вариант 1 — масса парной туши с головой, ногами и хвостом; вариант 2 — масса парной туши без головы, ног и хвоста), а также убойный выход (отношение массы парной туши к живой массе перед убоем).

Для изучения микроструктуры мышечной ткани через 45 мин после убоя отбирали образцы длиннейшей мышцы спины (*musculus longissimus dorsi*) размером 3×3×3 см. Образцы фиксировали в 10 % нейтральном забуференном растворе формалина в течение 72 ч при 22 °С. Для исследования от каждого образца отбирали два фрагмента размером 1,5×1,5×0,5 см с про-

дольной и поперечной ориентацией мышечных волокон, промывали холодной проточной водой в течение 4 ч и уплотняли в растворах желатина («AppliChem GmbH», Германия) по восходящей концентрации (12,5 %, 25 %) при 37 °С в течение 8 ч в каждом растворе.

Изготовление серийных срезов толщиной 16 мкм осуществляли на криостатате MIKROM-HM525 («Thermo Scientific», США). С каждого фрагмента готовили по три среза. Полученные срезы монтировали на стекла Menzel-Glaser («Thermo Scientific», США) и окрашивали гематоксилином Эрлиха и 1 % водно-спиртовым раствором эозина («BioVitrum», Россия) по общепринятой методике (50). Для изучения гистологических препаратов и их фотографиярования использовали световой микроскоп AxioImager A1 («Carl Zeiss», Германия) с подключенной видеокамерой AxioCam MRc 5 («Carl Zeiss», Германия) (51).

Морфометрические исследования проводили с применением программы анализа изображений AxioVision 4.7.1.0 («Carl Zeiss», Германия). Диаметр мышечных волокон, длину саркомеров и площадь поперечного сечения гигантских волокон измеряли в интерактивном режиме. Анализировали не менее 100 объектов для каждого среза. Диаметр волокон определяли с точностью $\pm 1,0$ мкм. Длину саркомеров измеряли с точностью $\pm 0,1$ мкм. Также подсчитывали число гигантских волокон на 1 см² среза и плотность расположения мышечных волокон на 1 мм².

При изучении поперечных срезов гистологических препаратов определяли форму мышечных волокон, плотность их расположения, состояние ядер, толщину и состояние соединительнотканых прослоек, выявляли гигантские волокна. На продольных срезах определяли состояние и форму мышечных волокон, состояние сарколеммы, наличие исчерченности (поперечной, продольной), наличие деструктивных изменений (разрывы, трещины, фрагментация), выявляли узлы гиперсокращения.

Статистический анализ экспериментальных данных осуществляли при помощи программного обеспечения R (версия 4.2.1). Количественные данные представлены в виде средних арифметических (M), стандартных ошибок среднего ($\pm SEM$), стандартных отклонений ($\pm SD$), минимального и максимального значений (min/max), доверительных интервалов (CI) и медианы (Me). По критерию Колмогорова-Смирнова оценивали нормальность распределения параметров количественных переменных. Выявление взаимосвязи изучаемого фактора с морфометрическими показателями мышечной ткани проводили методами однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и с использованием критерия Даннетта. Различия считали статистически значимыми и признавали наличие связи между показателями на уровне p , не превышающем 0,05.

Результаты. Животные из контрольной и опытной групп не различались ни по динамике роста, ни по убойным показателям ($p > 0,05$) (табл. 1, 2). Тем не менее поросята из опытной группы росли интенсивнее своих сверстников в контроле (на 6,8 %, или 929,7 против 870,7 г/сут). Также сохранность поголовья в контрольной группе составляла 98,1 % против 100 % в опытной группе, что подтверждало положительную роль изучаемого фактора питания при откорме свиней. В обеих группах были туши, не имевшие статистически значимых различий по убойному выходу при обоих вариантах его подсчета. Это свидетельствовало о несущественных различиях в динамике развития животных в период откорма, а также о сходных массовых характеристиках полученных туш как с учетом субпродуктов (голова, ног, хвоста), так и без их учета.

1. Средняя масса помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F₂ [(крупная белая × ландрас) × дюрок] при скармливании комплекса адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов Е, С ($M \pm SEM$, ООО «Брянский мясоперерабатывающий комбинат», Брянская обл., 2021–2022 годы)

Группа	Средняя масса, кг	
	групповое взвешивание ($n = 54$)	индивидуальное взвешивание ($n = 10$)
Контрольная	62,41	65,7±1,4
Опытная	61,93	63,5±1,1
		0-е сут
Контрольная	113,26	112,6±1,6
Опытная	114,33	114,1±2,1
		58-е сут

Примечание. Описание групп см. в разделе «Методика».

2. Убойные показатели помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F₂ [(крупная белая × ландрас) × дюрок] при скармливании комплекса адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов Е, С ($M \pm SEM$, ООО «Брянский мясоперерабатывающий комбинат», Брянская обл., 2021–2022 годы)

Группа	Средняя масса туши, кг		Средний убойный выход, кг	
	вариант 1 ($n = 10$)	вариант 2 ($n = 10$)	вариант 1 ($n = 10$)	вариант 2 ($n = 10$)
Контрольная	90,7±5,1	83,0±4,7	80,5±1,3	73,6±1,3
Опытная	90,7±5,0	83,2±4,6	79,5±1,2	73,0±1,3

Примечание. Описание групп и вариантов см. в разделе «Методика».

Последовательность проведения морфометрического анализа мышечной ткани поросят приведена на рисунке 1.

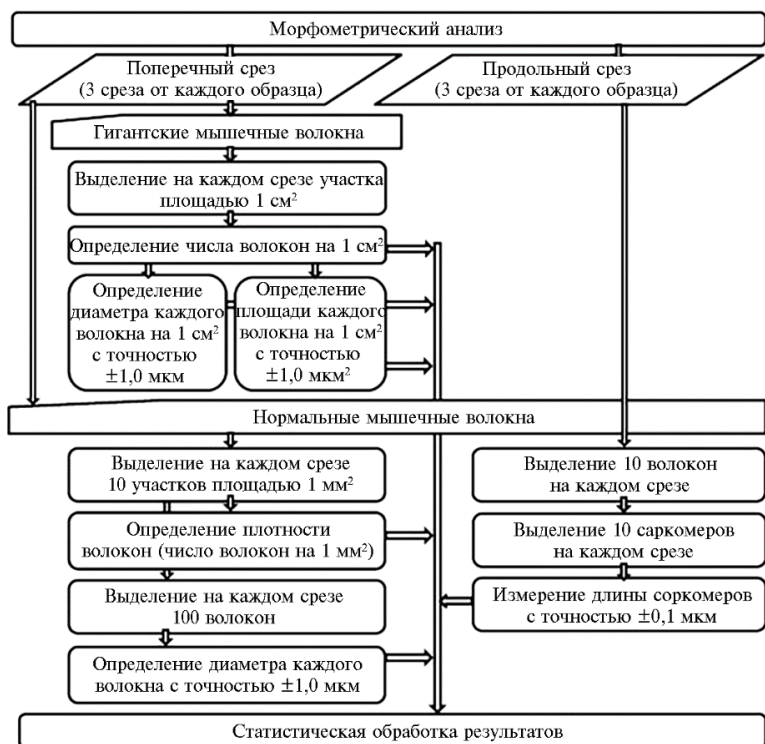


Рис. 1. Последовательность проведения морфометрических исследований мышечной ткани помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F₂ [(крупная белая × ландрас) × дюрок] при скармливании комплекса адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов Е, С (ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 2022 год)

Несмотря на то, что всех животных выращивали, откармливали и

подвергали убою в одинаковых условиях, у поросят из контрольной и опытной групп наблюдались различия в состоянии мышечной ткани отобранных образцов. Репрезентативные фотографии микроструктуры каждого из 10 образцов в контрольной и в опытной группах представлены на рисунках 2 и 3. На рисунке 4 приведена структура мышечной ткани, в которой присутствуют гигантские волокна.

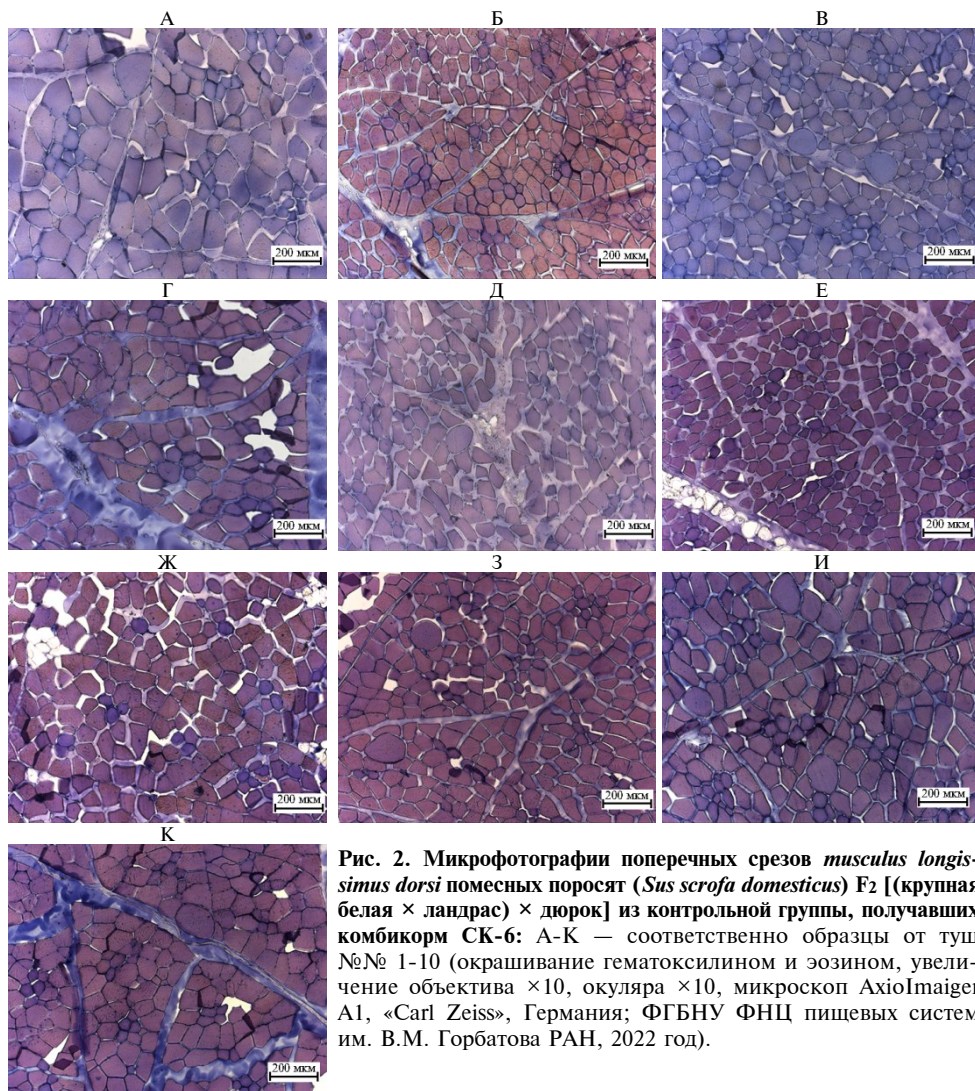


Рис. 2. Микрофотографии поперечных срезов *musculus longissimus dorsi* помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F2 [(крупная белая × ландрас) × дюрок] из контрольной группы, получавших комбикорм СК-6: А-К — соответственно образцы от туш №№ 1-10 (окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение объектива ×10, окуляра ×10, микроскоп AxioImager A1, «Carl Zeiss», Германия; ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 2022 год).

Оценка значимости различий средних величин по *t*-критерию Стьюдента показала статистически достоверные различия между образцами контрольной и опытной групп по средней длине саркомеров ($p = 0,000007$) и по плотности расположения мышечных волокон ($p = 0,02$) (табл. 3). Медианы этих показателей в опытной группе были больше (2,1 мкм и 201 шт/мм²), чем в контроле (1,9 мкм и 177 шт/мм²), то есть опытная группа характеризовалась более плотным расположением волокон и большей длиной саркомеров (рис. 5, 6).

Также наблюдалась тенденция к достоверности различий между контрольной и опытной группами по среднему диаметру мышечных волокон ($p = 0,05$), который изменялся соответственно в пределах 55,7-57,8 и 54,4-56,3 мкм. При этом медиана в опытной группе была меньше, чем в

контрольной (53,7 против 55,1 мкм), что свидетельствовало о более тонковолокнистой структуре образцов опытной группы. Однако характер распределения значений этого показателя для образцов контрольной и опытной группы был схожим (рис. 7).

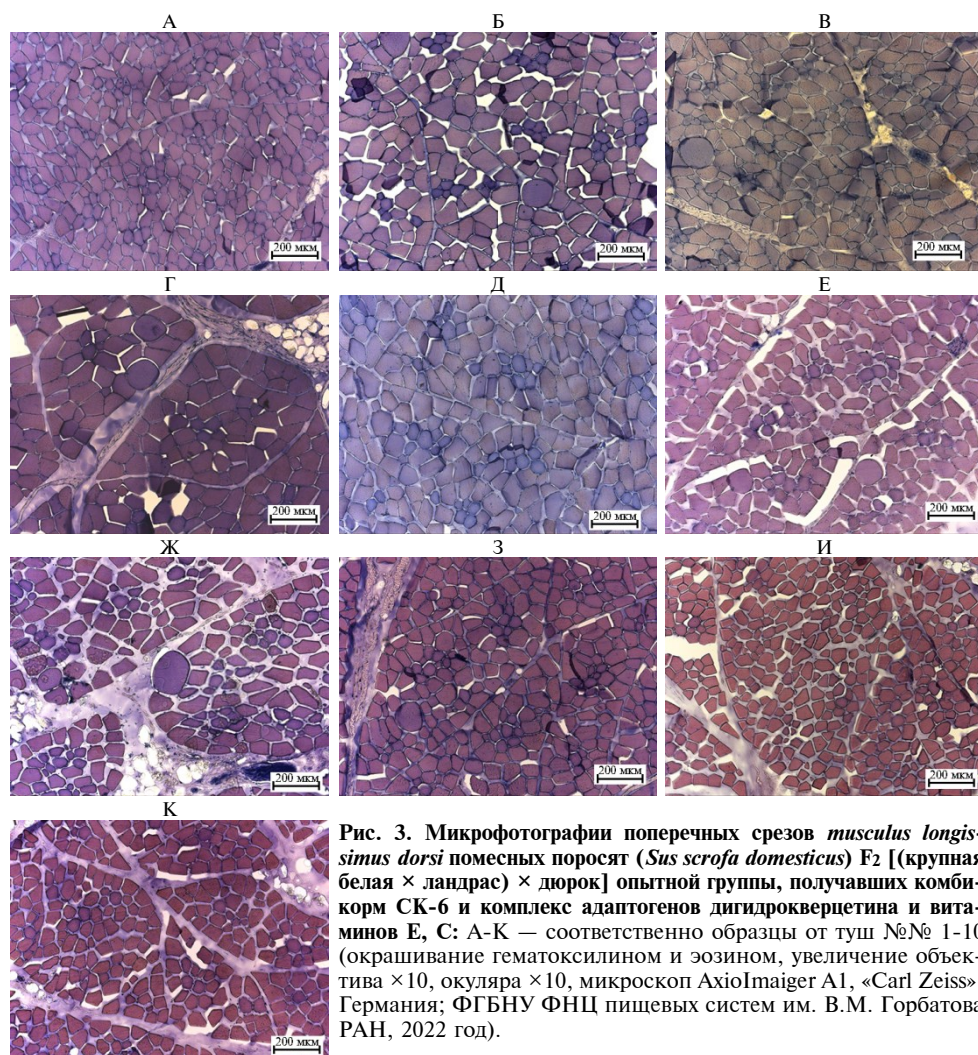


Рис. 3. Микрофотографии поперечных срезов *musculus longissimus dorsi* помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F2 [(крупная белая × ландрас) × дюрок] опытной группы, получавших комбикорм СК-6 и комплекс адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов Е, С: А-К — соответственно образцы от туш №№ 1-10 (окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение объектива ×10, окуляра ×10, микроскоп AxioImager A1, «Carl Zeiss», Германия; ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 2022 год).

3. Морфометрические показатели мышечной ткани *musculus longissimus dorsi* помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F2 [(крупная белая × ландрас) × дюрок] при скормлинии комплекса адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов Е, С ($n = 10$; ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 2022 год)

Показатель		Группа	
		контрольная	опытная
Диаметр мышечных волокон, мкм	k	1000	1000
	$M \pm SD$	56,8 ± 16,7**	55,4 ± 15,6**
	min-max	17,5-121,6	16,8-107,1
	<i>Me</i>	55,1	53,7
	SEM	0,5	0,5
	95 % CI	55,7-57,8	54,4-56,3
	k	100	100
Длина саркомеров, мкм	$M \pm SD$	1,9 ± 0,2*	2,1 ± 0,3*
	min-max	1,5-2,2	1,6-2,7
	<i>Me</i>	1,9	2,1
	SEM	0,02	0,03
	95 % CI	1,9-1,9	2,1-2,2

Плотность расположения мышечных волокон (количество на единицу площади поперечного среза), шт/мм ²	k	30	30
	<i>M</i> ±SD	182±39*	206±40*
	min-max	124-265	146-286
	<i>Me</i>	177	201
	SEM	7	7
	95 % CI	169-198	189-218
Диаметр гигантских волокон, мкм	k	213	116
	<i>M</i> ±SD	123,7±14,7	121,9±15,6
	min-max	91,7-169,1	91,6-177,6
	<i>Me</i>	122,5	119,5
	SEM	1,0	1,5
	95 % CI	120,6-124,5	118,8-124,5
Площадь гигантских волокон на поперечном срезе, мкм ²	k	213	116
	<i>M</i> ±SD	11999±2892	11850±3129
	min-max	6597-22460	6588-24774
	<i>Me</i>	11784	11206
	SEM	198	291
	95 % CI	11572-12337	11222-12358

Примечание. k — число наблюдений, *M* — среднее значение, SD — стандартное отклонение, min-max — минимальное и максимальное значения, *Me* — медиана, SEM — стандартная ошибка среднего, CI — доверительный интервал. Описание групп и вариантов см. в разделе «Методика».

* и ** Различия с контролем статистически значимы соответственно при $p < 0,05$ и $p = 0,05$.

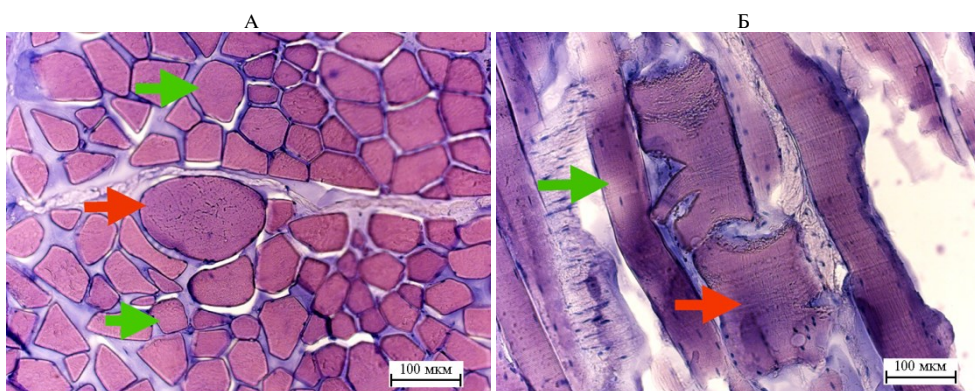


Рис. 4. Гигантские (красная стрелка) и нормальные (зеленая стрелка) волокна на поперечном (А) и продольном (Б) срезах *musculus longissimus dorsi* помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F₂ [(крупная белая × ландрас) × дюрок] (окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение объектива ×20, окуляра ×10, микроскоп AxioImager A1, «Carl Zeiss», Германия; ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 2022 год).

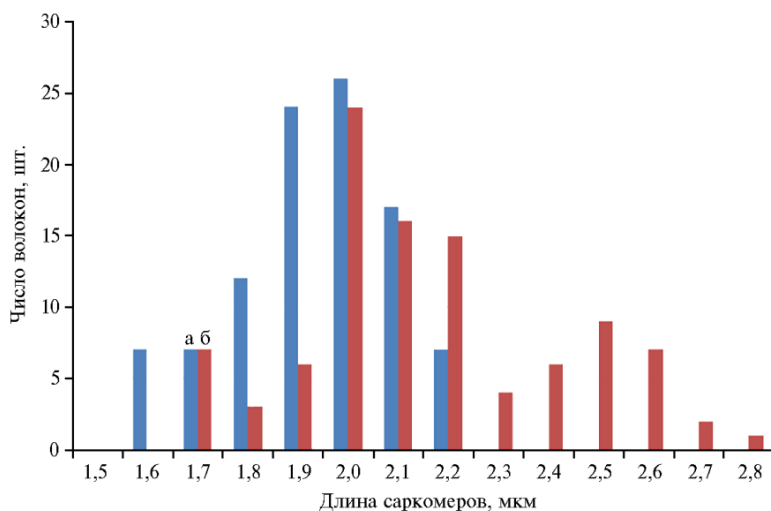


Рис. 5. Распределение волокон по длине саркомеров в образцах мышечной ткани *musculus longissimus dorsi* помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F₂ [(крупная белая × ландрас) × дюрок]

в контрольной группе (а) и при скармливании комплекса адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов Е, С (б) (ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 2022 год).

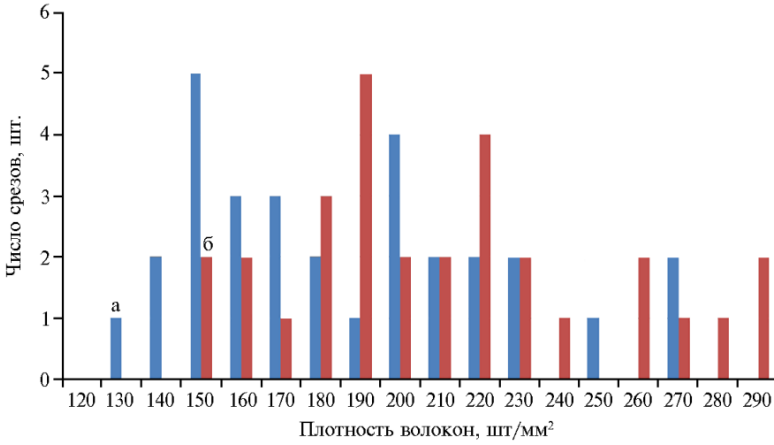


Рис. 6. Распределение срезов по плотности расположения мышечных волокон в образцах мышечной ткани *musculus longissimus dorsi* помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F2 [(крупная белая × ландрас) × дюрок] в контрольной группе (а) и при скармливании комплекса адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов Е, С (б) (ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 2022 год).

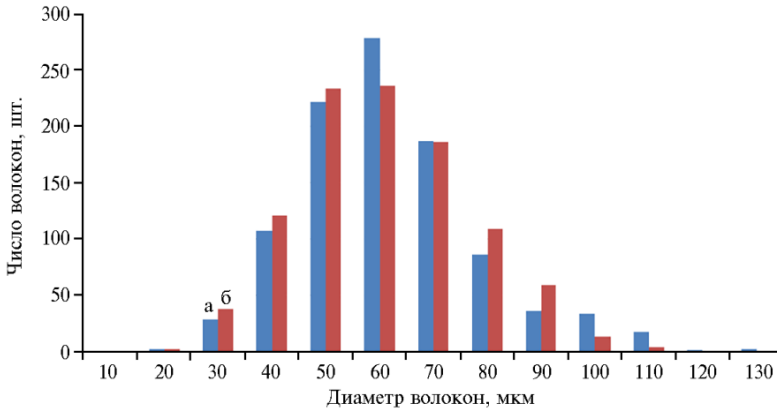


Рис. 7. Распределение мышечных волокон по диаметру в образцах мышечной ткани *musculus longissimus dorsi* помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F2 [(крупная белая × ландрас) × дюрок] в контрольной группе (а) и при скармливании комплекса адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов Е, С (б) (ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 2022 год).

При исследовании гистологических срезов в образцах контрольной и опытной групп было выявлено соответственно 213 и 116 гигантских волокон, но ни по среднему диаметру, ни по средней площади гигантских волокон достоверных различий между контрольной и опытной группами не установлено.

Средние значения для групп, наблюдаемых в биологических экспериментах, как правило, не показательны в отношении варьирующих параметров. При одинаковых средних значениях для групп признаки могут существенно различаться по степени и характеру варьирования в конкретных образцах в каждой группе (53). В нашем эксперименте наиболее значительное варьирование наблюдалось по среднему диаметру и плотности расположения мышечных волокон, а также средней площади и числу гигантских волокон (табл. 4).

Учитывая значительную вариабельность морфометрических показателей, а также целесообразность использования, наряду с численными дан-

ными, ряда описательных гистологических характеристик, мы адаптировали и применили полуколичественный метод на основе балльной оценки, разработанный совместно ФГБНУ Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова и ФГБНУ Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста (52) (табл. 5).

4. Коэффициенты вариации (%) морфометрических показателей мышечной ткани *musculus longissimus dorsi* помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F2 [(крупная белая × ландрас) × дюрк] при скормлинии комплекса адаптогенов ди- гидрокверцетина и витаминов Е, С (n = 10; ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 2022 год)

Показатель	Группа	
	контрольная	опытная
Средний диаметр мышечных волокон	29,39	31,12
Средняя длина саркомеров	8,51	12,32
Плотность расположения мышечных волокон (число на единицу площади поперечного среза)	21,42	19,42
Средний диаметр гигантских волокон	12,00	12,81
Средняя площадь гигантских волокон на поперечном срезе	24,11	26,40
Плотность расположения гигантских волокон (число на единицу площади поперечного среза)	70,83	100,00

Примечание. Описание групп и вариантов см. в разделе «Методика».

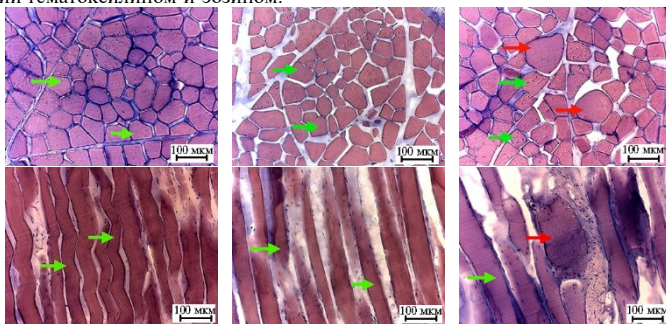
5. Схема балльной оценки проявления признаков миопатии на основе анализа микроструктурных изображений мышечной ткани *musculus longissimus dorsi* помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F2 [(крупная белая × ландрас) × дюрк]

Показатель	Характеристика (значение) показателя/присваиваемые баллы		
	без признаков миопатии	умеренно выраженная миопатия	выраженная миопатия
Форма мышечных волокон	Слегка волнистые, плотно расположенные/1	Преимущественно прямые, плотно расположены/2	Прямые, лежат свободно по отношению друг к другу/3
Состояние поперечной исчерченности	Отчетливо выражена/1	Мелкая, сближенная, сглаженная, неравномерная/2	Мелкая, сближенная, сглаженная, неравномерная/2
Средняя длина саркомеров, мкм	От 2,0 (включительно) и более/1	1,6-1,9 (включительно)/2	Менее 1,6/3
Наличие деструктивных изменений сарколеммы	Не обнаруживаются/1	Присутствуют единичные разрывы сарколеммы/2	Присутствуют множественные разрывы сарколеммы/3
Наличие гигантских волокон (узлов сокращения), шт/см ²	Не обнаруживаются и/или обнаруживаются единичные (до 10)/1	От 10 (включительно) до 30/2	От 30 (включительно) и более/3
Средняя площадь гигантских волокон на поперечном срезе, мкм ²	До 10 000/1	От 10 000 (включительно) до 15 000/2	От 15 000 (включительно) и более/3
Плотность расположения мышечных волокон (число на единицу площади поперечного среза), шт/мм ²	От 250 (включительно) и более/1	и От 150 (включительно) до 250/2	До 150/3
Доля мышечных волокон, диаметр которых меньше или больше на 1/3 среднего диаметра волокон, %	До 7 (включительно)/1	От 8 (включительно) до 30/2	От 30 (включительно) и более/3

Микроструктура при окрашивании гематоксилином и эозином:

поперечный срез

продольный срез



Примечание. К мышечной ткани без признаков миопатии, с деструктивными изменениями, соответствующими нормальному развитию аутолитических процессов, относили образцы, не имевшие ни по одному показателю оценку 3 балла и набравшие не более 12 баллов включительно; к мышечной ткани с умеренно выраженными признаками миопатии относили образцы, набравшие от 13 до 16 баллов включительно, образцы с умеренно выраженной миопатии могли не содержать или содержать в структуре мышечной ткани отдельные гигантские волокна (выше представлены фотографии микроструктуры такой мышечной ткани без гигантских волокон); к мышечной ткани с выраженными признаками миопатии относили образцы, набравшие свыше 16 баллов. На фотографиях зеленые стрелки — нормальные волокна, красные стрелки — гигантские волокна (окрашивание гематоксилином и эозином, увеличение объектива $\times 20$, окуляра $\times 10$, микроскоп AxioImager A1, «Carl Zeiss», Германия).

По результатам балльной оценки микроструктуры мышечной ткани (табл. 6) в контрольной группе был обнаружен только 1 образец, не имевший признаков миопатии, 4 образца имели признаки умеренной миопатии и 5 образцов — выраженной миопатии. В опытной группе без признаков миопатии было 4 образца, с признаками умеренной миопатии — 6 образцов. При этом в опытной группе не выявили ни одного образца с выраженной миопатией.

6. Результаты индивидуальной балльной оценки микроструктуры мышечной ткани *musculus longissimus dorsi* помесных поросят (*Sus scrofa domesticus*) F₂ [(крупная белая \times ландрас) \times дюрок] при скармливании комплекса адаптогенов дигидрохверцетина и витаминов Е, С ($n = 10$; ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 2022 год)

Показатель	Группа	Балльная оценка для образцов									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Форма мышечных волокон	К	1	1	2	2	2	3	3	2	2	2
	О	2	2	2	1	1	3	1	1	3	3
Состояние поперечной исчерченности	К	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2
	О	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Средняя длина саркомеров	К	2	2	2	2	2	1	2	2	2	3
	О	1	1	1	2	2	1	1	2	1	1
Наличие деструктивных изменений сарколеммы	К	3	1	3	1	2	1	1	3	3	3
	О	1	3	1	1	2	1	1	1	1	1
Наличие гигантских волокон (узлов сокращения)	К	3	1	3	1	2	1	1	3	3	3
	О	1	3	2	1	1	2	2	1	1	1
Средняя площадь гигантских волокон на поперечном срезе	К	2	1	2	3	1	3	3	1	2	2
	О	1	2	2	2	2	1	2	2	1	1
Плотность расположения гигантских волокон (число на единицу площади поперечного среза)	К	3	1	2	3	2	2	3	2	2	2
	О	1	2	2	2	2	2	3	2	1	2
Доля мышечных волокон, диаметр которых меньше или больше на $1/3$ среднего диаметра волокон	К	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
	О	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
Общее количество баллов	К	17	10	17	15	14	14	16	17	18	20
	О	10	16	13	12	13	13	13	12	11	11
Заключение о признаках миопатии	К	В	Б	В	У	У	У	У	В	В	В
	О	Б	У	У	Б	У	У	У	Б	Б	Б

Примечание. К — контрольная группа, О — опытная группа; Б — без признаков миопатии, У — умеренно выраженная миопатия, В — выраженная миопатия. Описание групп и вариантов см. в разделе «Методика».

Статистическая обработка результатов балльной оценки степени выраженности признаков миопатии образцов мышечной ткани (табл. 7) показала, что туши из контрольной и опытной групп имели достоверные различия по средней длине саркомеров ($p = 0,006$) и наличию деструктивных изменений ($p = 0,04$). По среднему числу баллов (см. табл. 7), отражающему общую выраженность миопатии, обе группы достоверно различались ($p = 0,004$). Тем не менее по среднему числу баллов и контрольную, и опытную группы следовало бы отнести к образцам мышечной ткани с умеренно выраженной миопатией. Однако при этом разница была очевидной: контрольная группа приближалась к состоянию выраженной миопатии (свыше 16 баллов), а опытная — к состоянию без признаков миопатии (до 12 баллов

включительно).

7. Средняя оценка (в баллах) выраженности признаков миопатии мышечной ткани *musculus longissimus dorsi* у помесных поросят (*Sus scrofa domestica*) F₂ [(крупная белая × ландрас) × дюрок] при скармливании комплекса адаптогенов дигидрокверцетина и витаминов Е, С ($n = 10$, $M \pm SEM$; ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, 2022 год)

Показатель	Группа	
	контрольная	опытная
Форма мышечных волокон	2,0±0,2	1,9±0,3
Состояние поперечной исчерченности	1,3±0,2	1,0±0,0
Средняя длина саркомеров	2,0±0,3*	1,3±0,2*
Наличие деструктивных изменений сарколеммы	2,1±0,3*	1,3±0,2*
Наличие гигантских волокон (узлов сокращения)	2,1±0,3	1,5±0,2
Средняя площадь гигантских волокон на поперечном срезе	2,0±0,2	1,6±0,2
Плотность расположения мышечных волокон (число на единицу площади поперечного среза)	2,2±0,2	1,9±0,2
Доля мышечных волокон, диаметр которых меньше или больше на 1/3 среднего диаметра волокон	2,1±0,1	1,9±0,1
Среднее число баллов	15,8±0,9*	12,4±0,5*

Примечание. Описание групп и вариантов см. в разделе «Методика».
* Различия с контролем статистически значимы при $p < 0,05$.

Растущее число миопатий постоянно отмечается у животных, интенсивно выращиваемых на мясо. Одновременно наблюдается снижение потребительского качества мясной продукции (53, 54), что приводит к огромным экономическим потерям для отрасли. В нашем исследовании в контрольной группе была выявлена только одна туша, где в мышечной ткани мы не нашли признаков миопатии, при этом половина исследованных образцов была отнесена к мышечной ткани с выраженной миопатией. Высокая частота проявлений миопатических изменений в контрольной группе свидетельствует о наличии проблемы и подтверждает озабоченность многих исследователей снижением потребительских характеристик мяса.

В последнее время применение адаптогенов, позволяющих снижать последствия окислительного стресса, вызванного факторами, связанными с содержанием и убоем животных, становится все более популярным в животноводстве и птицеводстве (55, 56). В качестве адаптогенов-антиоксидантов рассматриваются полифенолы растительного происхождения, жир- и водорастворимые витамины (57, 58). Об их эффективности в опытах *in vivo* судят главным образом по показателям крови, характеризующим антиоксидантный статус особей, получающих адаптоген, а также по некоторым важным с точки зрения потребителя органолептическим качествам мяса, например по цвету мышечной ткани (59). Вместе с тем очень мало работ посвящено изучению микроструктуры мышечной ткани мяса в зависимости от антиоксидантного статуса животных. В этой связи наше исследование представляет интерес как в теоретическом, так и в практическом аспекте.

Для повышения антиокислительного статуса помесных поросят мы использовали комплекс адаптогенов — дигидрокверцетин, витамины Е и С, который был выбран на основе анализа данных литературы и наших собственных исследований. В опытной группе мы наблюдали улучшение микроструктуры мышечной ткани. Мышечные волокна располагались плотнее, поперечная исчерченность была более выражена, длина саркомеров увеличивалась, наблюдалось меньше деструктивных изменений сарколеммы мышечных волокон. Мышечные волокна — это ключевой элемент мышечной ткани. Связь указанных изменений микроструктуры с повышением качества мяса отмечена в работах других авторов (60, 61). Преобладание волокон малого и среднего диаметра без деструктивных особенностей способствует улучшению качества мяса (62). Изменение числа и диаметра

мышечных волокон влечет за собой изменение качества мяса (63).

Характеристики мышечных волокон зависят от генетических факторов (64). Интенсивно растущие животные, получаемые посредством двух- и трехпородного скрещивания, проигрывают медленно растущим чистопородным особям по плотности расположения мышечных волокон (60, 61, 63). Отмечают положительное влияние повышенных значений этого показателя на качество мяса (62). В нашем эксперименте за счет фактора питания у животных одинакового генетического происхождения — F₂ [(крупная белая × ландрас) × дюрок] плотность расположения мышечных волокон была увеличена на 14 %, что можно считать значимым результатом.

Гигантские волокна следует рассматривать как патологические последствия прошлых стрессов, а не как дополнительный тип нормальных мышечных клеток (23). Наличие большого числа гигантских волокон в мышечной ткани также более характерно для гибридных животных, предполагает развитие порока PSE и низкие потребительские характеристики мяса (62). В образцах мышечной ткани от поросят из опытной группы мы выявили на 46 % меньше гигантских волокон.

Таким образом, при скармливании помесным пороссятам комплекса адаптогенов дигидрохверцетина и витаминов E, C (ДКВЕС) были выявлены значимые различия между образцами контрольной и опытной групп по средней длине саркомеров, плотности расположения мышечных волокон, наличию деструктивных изменений сарколеммы и общей балльной оценке степени выраженности миопатических изменений. Характер выявленных различий свидетельствовал об улучшении состояния мышечной ткани у животных, получавших комплекс адаптогенов. Отдельно следует отметить влияние ДКВЕС на снижение числа гигантских волокон, что указывает на положительные изменения в мышечном метаболизме до и после убоя. В нашем эксперименте такие факторы, как генетический, породный, условия содержания и обращения с животными, были исключены. То есть снижение риска получения мяса низкого качества в опытной группе было достигнуто только за счет использования ДКВЕС *in vivo*, что позволяет сделать вывод о влиянии комплекса адаптогенов на стрессоустойчивость животных и гликолиз в мясе. Снижение числа гигантских волокон в образцах от опытной группы почти в 2 раза (11,6 против 21,3 шт/см² в контроле) свидетельствовало о существенном улучшении их микроструктуры. Менее выраженный характер деструктивных изменений сарколеммы в опытной группе также указывал на повышение стрессоустойчивости животных. Выполненные нами исследования микроструктуры мышечной ткани дают основания полагать, что проблема снижения качества свинины при разведении быстрорастущих гибридных особей может быть экономически эффективно решена правильным подбором малых доз адаптогенов, которые животные получают с кормом.

¹ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН,
109316 Россия, г. Москва, ул. Талалихина, 26,
e-mail: a.semenova@fnpcs.ru, labsens@mail.ru, v.pchelkina@fnpcs.ru,
v.nasonova@fnpcs.ru, spbsl21@gmail.com;

Поступила в редакцию
25 августа 2022 года

²ФГБНУ Федеральный исследовательский центр
животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста,
142132 Россия, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Дубровицы, 60,
e-mail: nek_roman@mail.ru ✉, 652202@mail.ru

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2023, V. 58, № 2, pp. 355-372

EFFECT OF ADAPTOGENS ON MUSCLE TISSUE MICROSTRUCTURE OF HYBRID PIGS (*Sus scrofa domesticus* L.) DURING INTENSIVE FATTENING

A.A. Semenova¹, T.G. Kuznetsova¹, V.A. Pchelkina¹, V.V. Nasonova¹, S.I. Loskutov¹,

¹Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, 26, ul. Talalikhina, Moscow, 109316 Russia, e-mail a.semenova@fncps.ru, labsens@mail.ru, v.pchelkina@fncps.ru, v.nasonova@fncps.ru, spbsl21@gmail.com;

²Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, 60, pos. Dubrovitsy, Podolsk District, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail nek_roman@mail.ru (✉ corresponding author), 652202@mail.ru

ORCID:

Semenova A.A. orcid.org/0000-0002-4372-6448

Loskutov S.I. orcid.org/0000-0002-8102-2900

Kuznetsova T.G. orcid.org/0000-0002-5164-1807

Bogolyubova N.V. orcid.org/0000-0002-0520-7022

Pchelkina V.A. orcid.org/0000-0001-8923-8661

Nekrasov R.V. orcid.org/0000-0003-4242-2239

Nasonova V.V. orcid.org/0000-0001-7625-3838

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by Russian Science Foundation, project No. 19-16-00068-Π

Final revision received August 25, 2022

doi: 10.15389/agrobiology.2023.2.355eng

Accepted October 10, 2022

Abstract

At present, improving the quality of pork while increasing the production of pork is of generally recognized economic importance. Diets have been shown to affect the characteristics of muscle fibers. Adaptogens (vitamins and bioflavonoids) that animals need during active growth period can prevent myopathic transformation in meat. This paper for the first time reports on the improved microstructure of the *musculus longissimus dorsi* in crossbred pigs fed a complex of adaptogens (dihydroquercetin and vitamins E, C) during the fattening period. Our aim was to evaluate the effect of the complex of dihydroquercetin + vitamins E, C on the microstructure of meat muscle tissue in hybrid pigs. The experiments were carried out in 2021-2022 at Gorbatov Federal Research Center of Food Systems, Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry and BMPK (Bryansk Province). Crossbred piglets ($n = 108$) (*Sus scrofa domesticus*) F2 [(Large White × Landrace) × Duroc] were randomly selected and assigned to two groups, $n = 54$ each, for a 58-day fattening. The control group were fed only a complex feed (SK-6, Russia), The test group was additionally fed an experimental dietary complex of adaptogens (DEC) that contains dihydroquercetin (DHQ, Ecostimul-2, JSC Ametis, Russia; 72-73 % DHQ, 32 mg/kg of feed), vitamin E (INNOVIT E60, GC MEGAMIX, Russia; 10 mg/kg feed) and vitamin C (Tiger C 35, Anhui Tiger Biotech Co. Ltd., China; 35 mg/kg feed). Young animals were weighed twice (on day 0 and day 58) by group weighing and individual weighing of 10 animals from each group. After slaughter, the paired carcass weight and the slaughter yield were assessed. To study the microstructure of muscle tissue, 45 min after slaughter, samples (3×3×3 cm) of the longest back muscle (*musculus longissimus dorsi*) were collected and fixed in 10 % neutral buffered formalin solution for 72 h at room temperature. For further study, two fragments (1.5×1.5×0.5 cm) of each sample with longitudinal and transverse orientations were washed with cold running water for 4 h, then compacted at 37 °C in gelatin (AppliChem GmbH, Germany) of ascending concentrations (12.5 and 25 %, for 8 h in each). Serial 16 μm sections were prepared using a MIKROM-HM525 cryostat (Thermo Scientific, USA), mounted on Menzel-Glaser glasses (Thermo Scientific, USA) and stained with Ehrlich's hematoxylin and 1 % eosin water-alcohol solution (BioVitrum, Russia). The histological preparations were examined and photographed using an AxioImager A1 light microscope (Carl Zeiss, Germany) with a connected AxioCam MRc 5 video camera (Carl Zeiss, Germany). Morphometric studies were performed using the AxioVision 4.7.1.0 image analysis program (Carl Zeiss, Germany). Muscle fiber diameter, sarcomere length, and giant fiber cross-sectional area were measured online. On cross sections, the shape of muscle fibers, their density, the state of the nuclei, the thickness and state of the connective tissue layers were investigated, and giant fibers were identified. On longitudinal sections, the state and shape of muscle fibers, the state of the sarcolemma, the presence of striation (transverse, longitudinal) and destructive changes (ruptures, cracks, fragmentation), hypercontraction nodes were identified. Despite the absence of statistically significant differences in live weight and slaughter traits between groups during fattening, histological studies revealed significant differences in average values of muscle fiber density ($p = 0.02$) and sarcomere length ($p = 0.000007$). Almost a 2-fold decrease in the number of giant fibers in test group (11.60 vs. 21.30 pcs/cm²) indicates a significant improvement in the tissue microstructure compared to the control animals that did not receive DEC. The less pronounced destructive changes in the sarcolemma in the test animals also indicate an increase in the animal stress resistance. Given a significant variability of morphometric parameters in both groups, we applied a scoring procedure which allows us to classify carcasses according to the severity of myopathic changes in muscle tissues based on the results of the muscle fiber microstructure study. In control, there was only one carcass that had no signs of myopathy; four carcasses showed signs of moderate myopathy and five carcasses showed signs of severe myopathy. On the contrary, in the test group, there were four carcasses without signs of myopathy and six carcasses with signs of moderate myopathy. There were no cases of severe myopathy in the study group. The groups differed statistically significantly ($p = 0.004$) in scores characterizing the severity of myopathic changes in muscle tissue. Our findings show that the dietary adaptogen complex DEC can provide the improvement of the microstructure of the muscle tissue and, therefore, has a positive effect on animal stress resistance and the degree of glycolysis in meat.

Keywords: adaptogen, dihydroquercetin, stress, young pigs, muscle tissue, giant fibers, contractile nodes, microstructure, histology.

REFERENCES

1. Komlatskiy G.V. *Industrializatsiya i intensivifikatsiya otrasli svinovodstva na yuge Rossii. Doktorskaya dissertatsiya* [Industrial and intensive technologies of pig farming in the south of Russia. DSc Thesis]. Cherkessk, 2014 (in Russ.).
2. Mörlein D., Link C., Werner C., Wicke M. Werner suitability of three commercially produced pig breeds in Germany for a meat quality program with emphasis on drip loss and eating quality. *Meat Science*, 2002, 77(4): 504-511 (doi: 10.1016/j.meatsci.2007.04.030).
3. *Informatsionno-tehnicheskiiy spravochnik po nailuchshim dostupnym tekhnologiyam ITS 41-2017. Intensivnoe razvedenie sviney* [Information and technical guide to the best available technologies ITS 41-2017. Intensive breeding of pigs]. Moscow, 2017 (in Russ.).
4. Petracci M., Cavani S. Muscle growth and poultry meat quality issues. *Nutrients*, 2012, 4(1): 1-12 (doi: 10.3390/nu4010001).
5. Szulc K., Wojtysiak D., Migdał Ł., Migdał W. The muscle fibre characteristics and the meat quality of *m. longissimus thoracis* from polish native zlotnicka spotted pigs and the crossbreed fatteners from the crossing of Duroc and Polish Large White boars. *Appl. Sci.*, 2022, 12(6): 3051 (doi: 10.3390/app12063051).
6. Listrat A., Leuret B., Louveau I., Astruc T., Bonnet M., Lefaucheur L., Bugeon J. Comment la structure et la composition du muscle déterminent la qualité des viands ou chairs. *INRAE Productions Animales*, 2015, 28(2): 125-136 (doi: 10.20870/productions-animales.2015.28.2.3020).
7. Vermeulen L., Van de Perre V., Permentier L., De Bie S., Verbeke G., Geers R. Pre-slaughter sound levels and pre-slaughter handling from loading at the farm till slaughter influence pork quality. *Meat Science*, 2016, 116: 86-90 (doi: 10.1016/j.meatsci.2016.02.007).
8. Scheffler T.L., Gerrard D.E. Mechanisms controlling pork quality development: The biochemistry controlling postmortem energy metabolism. *Meat Science*, 2007, 77(1): 7-16 (doi: 10.1016/j.meatsci.2007.04.024).
9. Fiedler I., Ender K., Wicke M., Maak S., von Lengerken G., Meyer W. Structural and functional characteristics of muscle fibres in pigs with different malignant hyperthermia susceptibility (MHS) and different meat quality. *Meat Science*, 1999, 53(1): 9-15 (doi: 10.1016/S0309-1740(99)00030-3).
10. Fiedler I., Dietl G., Rehfeldt C., Wegner J., Ender K. Muscle fibre traits as additional selection criteria for muscle growth and meat quality in pigs — results of a simulated selection. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 2004, 121(5): 331-344 (doi: 10.1111/j.1439-0388.2004.00466.x).
11. Brooke M.H., Kaiser K.K. Muscle fiber types: How many and what kind? *Arch. Neurol.*, 1970, 23: 369-379 (doi: 10.1001/archneur.1970.00480280083010).
12. Greaser M.L., Okochi H., Sosnicki A.A. Role of fiber types in meat quality. *Proc. 47th ICoMST*. Cracow, Poland, 2001: 34-37.
13. Karlsson A.H., Klont R.E., Fernandez X. Skeletal muscle fibres as factors for pork quality. *Live-stock Production Science*, 1999, 60(2-3): 255-269 (doi: 10.1016/S0301-6226(99)00098-6).
14. Cameron N.D., Oksbjerg N., Henckel P. Muscle fibre characteristics of pigs selected for components of efficient lean growth rate. *Proceedings of the British Society of Animal Science*, 1997: 32 (doi: 10.1017/S1752756200594733).
15. Cameron N.D., Oksbjerg N., Henckel P., Nute G., Brown S., Wood J.D. Relationships between muscle fibre traits with meat and eating quality in pigs. *Proceedings of the British Society of Animal Science*, 1998: 123 (doi: 10.1017/S1752756200597750).
16. Wegner J., Ender K. Microstructural bases for the growth of muscle and fatty tissue and relation to meat deposit and meat quality. *Fleischwirtschaft*, 1990, 70: 337-340.
17. Semenova A.A., Kuznetsova T.G., Nasonova V.V., Nekrasov R.V., Bogolyubova N.V. Myopathy as a destabilizing factor of meat quality formation. *Theory and Practice of Meat Processing*, 2019, 4(3): 24-31 (doi: 10.21323/2414-438X-2019-4-3-24-31).
18. Ryu Y.C., Choi Y.M., Lee S.H., Shin H.G., Choe J.H., Kim J.M., Hong K.C., Kim B.C. Comparing the histochemical characteristics and meat quality traits of different pig breeds. *Meat Science*, 2008, 80(2): 363-369 (doi: 10.1016/j.meatsci.2007.12.020).
19. Wojtysiak D., Poltowicz K. Carcass quality, physico-chemical parameters, muscle fibre traits and myosin heavy chain composition of *m. longissimus lumborum* from Pulawska and Polish Large White pigs. *Meat Science*, 2014, 97(4): 395-403 (doi: 10.1016/j.meatsci.2014.03.006).
20. Damez J.-L., Clerjon S. Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. *Meat Science*, 2008, 80(1): 132-149 (doi: 10.1016/j.meatsci.2008.05.039).
21. Dutson T.R., Merkel R.A., Pearson A.M., Gann G.L. Structural characteristics of porcine skeletal-muscle giant myofibers as observed by light and electron microscopy. *Journal of Animal Science*, 1978, 46(5): 1212-1220 (doi: 10.2527/jas1978.4651212x).
22. Sink J.D., Mann O.M., Turgut H. Characterization of the giant myofiber in bovine skeletal muscle. *Experimental Cell Biology*, 1986, 54(1): 1-7 (doi: 10.1159/000163337).
23. Sosnicki A. Histopathological observation of stress myopathy in *M. longissimus* in the pig and relationships with meat quality, fattening and slaughter traits. *Journal of Animal Science*, 1987,

- 65(2): 584-596 (doi: 10.2527/jas1987.652584x).
24. Schubert-Schoppmeyer A., Fiedler I., Nurnberg G., Jonas L., Ender K., Maak S., Rehfeldt C. Simulation of giant fibre development in biopsy samples from pig longissimus muscle. *Meat Science*, 2008, 80(4), 1297-1303 (doi: 10.1016/j.meatsci.2008.06.008).
 25. Dalle Zotte A., Remignon H., Ouhayoun J. Effect of some biological and zootechnical factors on appearance of giant fibres in the rabbit. Consequences on muscle fibre type, morphology and meat quality. *World Rabbit Science*, 2001, 9: 1-7 (doi: 10.4995/wrs.2001.439).
 26. Remignon H., Zanusso J., Albert G., Babilé R. Occurrence of giant myofibres according to muscle type, pre- or post-rigor state and genetic background in turkeys. *Meat Science*, 2002, 56(4): 337-343 (doi: 10.1016/s0309-1740(00)00059-0).
 27. Dalle Zotte A., Tasoniero G., Puolanne E., Remignon H., Cecchinato M., Catelli E., Cullere M. Effect of "Wooden Breast" appearance on poultry meat quality, histological traits, and lesions characterization. *Czech J. Anim. Sci.*, 2017, 62: 51-57 (doi: 10.17221/54/2016-CJAS).
 28. Wojtyśiak D., Poltowicz K., Migdal W. Effect of breed and age on histopathological changes in pig *m. semimembranosus*. *Annals of Animal Science*, 2012, 12(3): 311-321 (doi: 10.2478/v10220-012-0026-2).
 29. Bee G., Biolley C., Guex G., Herzog W., Lonergan S.M., Huff-Lonergan E. Effects of available dietary carbohydrate and preslaughter treatment on glycolytic potential, protein degradation, and quality traits of pig muscles. *Journal of Animal Science*, 2006, 84(1): 191-203 (doi: 10.2527/2006.841191x).
 30. Küchenmeister U., Nürnberg K., Fiedler I., Kuhn G., Nürnberg G., Ender K. Cell injury and meat quality of Pig in the time period post mortem from two genotypes susceptible or resistant to malignant hyperthermia. *European Food Research and Technology*, 1999, 209: 97-103 (doi: 10.1007/s002170050465).
 31. Wojtyśiak D., Gyrska M., Wojciechowska J. Muscle fibre characteristics and physico-chemical parameters of *m. semimembranosus* from pulawska, Polish Large White and Pietrain pigs. *Folia Biologica (Kraków)*, 2016, 64(3): 197-204 (doi: 10.3409/fb64_3.197).
 32. Rey-Salgueiro, L., Martínez-Carballo E., Fajardo P., Chapela M.J., Espiceira M., Simal-Gandara J. Meat quality in relation to swine well-being after transport and during lairage at the slaughterhouse. *Meat Science*, 2018, 142: 38-43 (doi: 10.1016/j.meatsci.2018.04.005).
 33. Sobczak M., Lachowicz K., Żochowska-Kujawska J. The influence of giant fibres on utility for production of massaged products of porcine muscle *longissimus dorsi*. *Meat Science*, 2010, 84: 638-644 (doi: 10.1016/j.meatsci.2009.10.024).
 34. Ostrenko K.S., Lemeshevsky V.O., Ovcharova A.N., Galochkina V.P., Sofronova O.V. Effect of adaptogens on the quality of pig meat. *Ukrainian Journal of Ecology*, 2020, 10(1): 344-348 (doi: 10.15421/2020_54).
 35. Kasprzyk A., Bogucka J. Meat quality of Pulawska breed pigs and image of longissimus lumborum muscle microstructure compared to commercial DanBred and Naima hybrids. *Arch. Anim. Breed.*, 2020, 63(2): 293-301 (doi: 10.5194/aab-63-293-2020).
 36. Golovakha V.I., Piddubnyak O.V., Shulyak V.V., Petrenko A.S., Patsenko D.A., Patsenko E.V. *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny*, 2015, 51(1-1): 21-25 (in Russ.).
 37. Bogolyubova N.V., Kuznetsova T.G., Nasonova V.V. i dr. *Sposob otsenki kachestva sviny. A.s. 2770804 (RF) S1 MPK G01N 33/12. Federal'noe issledovatel'skiy tsentr zhivotnovodstva - VIZh imeni akademika L.K. Ernsta" (RF), № 2021123212. Zayavl. 04.08.2021. Opubl. 21.04.2022. Byul. № 12 [Method for assessing the quality of pork. A.s. 2770804 (RF) C1 IPC G01N 33/12. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry (Russian Federation), №. 2021123212. Appl. 08/04/2021. Publ. 04/21/2022. Bull. № 12] (in Russ.)*.
 38. Joo S.T., Kim G.D., Hwang Y.H., Ryu Y.C. Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 2013, 95(4): 828-836 (doi: 10.1016/j.meatsci.2013.04.044).
 39. Rice D.A. Kennedy S. Vitamin E, selenium, and polyunsaturated fatty acid concentrations and glutathione peroxidase activity in tissues from pigs with dietetic microangiopathy (mulberry heart disease). *American Journal of Veterinary Research*, 1989, 50(12): 2101-2104.
 40. Li W.J., Zhao G.P., Chen J.L., Zheng M.Q., Wen J. Influence of dietary vitamin E supplementation on meat quality traits and gene expression related to lipid metabolism in the Beijing-you chicken. *British Poultry Science*, 2009, 50(2): 188-98.1 (doi: 10.1080/00071660902755409).
 41. Semenova A.A., Nasonova V.V., Kuznetsova T.G., Tunieva E.K., Bogolyubova N.V., Nekrasov R.V. Psiii-17 program chair poster pick: a study on the effect of dihydroquercetin added into a diet of growing pigs on meat quality. *Journal of Animal Science*, 2020, 98(S4): 364 (doi: 10.1093/jas/skaa278.639).
 42. Semenova A.A., Kuznetsova T.G., Nasonova V.V., Nekrasov R.V., Bogolyubova N.V., Tsis E.Yu. Use of antioxidants as adaptogens fed to pigs (*Sus scrofa domestica* Erleben, 1777) (meta-analysis). *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2020, 55(6): 1107-1125 (doi: 10.15389/agrobiol.2020.6.1107eng).
 43. *Direktiva 2010/63/EC Evropeyskogo parlamenta i Soveta Evropeyskogo soyuza po okhrane zhivotnykh, ispol'zuemykh v nauchnykh tselyakh*. St. Petersburg, 2012. Available: https://ruslasu.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive_201063_rus.pdf. No date.

44. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS № 123) (Strasbourg, 18.03.1986)*. Available: <https://norecopa.no/legislation/council-of-europe-convention-ets-123>. Accessed: 20.07.2022.
45. *GOST 33215-2014. Rukovodstvo po sodержaniyu i ukhodu za laboratornymi zhivotnymi. Pravila oborudovaniya pomeshcheniy i organizatsii protsedur* [GOST 33215-2014. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipping premises and organizing procedures]. Moscow, 2016 (in Russ.).
46. *GOST 33647-2015. Printsipy nadležashchey laboratornoy praktiki (GLP). Terminy i opredeleniya* [GOST 33647-2015. Principles of good laboratory practice (GLP). Terms and definitions]. Moscow, 2019 (in Russ.).
47. *GOST 33044-2014. Printsipy nadležashchey laboratornoy praktiki* [GOST 33044-2014. Principles of good laboratory practice]. Moscow, 2019 (in Russ.).
48. *Metodologiya nauchnykh issledovaniy v zhivotnovodstve* /Pod redaktsiyey V.S. Antonovoy, G.M. Topurii, V.I. Kosilova [Methodology of research in animal husbandry. V.S. Antonova, G.M. Topurii, V.I. Kosilov (eds.)]. Orenburg, 2011 (in Russ.).
49. Nekrasov R.V., Golovin A.V., Makhaev E.A., Anikin A.S., Pervov N.G., Strekozov N.I., Mysik A.T., Duborezov V.M., Chabaev M.G., Fomichev Yu.P., Gusev I.V. *Normy potrebnostey molochnogo skota i sviney v pitatel'nykh veshchestvakh* /Pod redaktsiyey R.V. Nekrasova, A.V. Golovina, E.A. Makhaeva [Nutrient requirements for dairy cattle and pigs. R.V. Nekrasov, A.V. Golovin, E.A. Makhaev (eds.)]. Moscow, 2018 (in Russ.).
50. Romeis B. *Mikroskopische technic*. P. Böck (ed.). Urban und Schwarzenberg, Münche—Wien—Baltimore, 1989 (doi: 10.1002/jobm.3620300221).
51. *Matematicheskiye metody v biologii i ekologii: vvedenie v elementarnuyu biometriyu* /Pod redaktsiyey S.I. Sideleva [Mathematical methods in biology and ecology: an introduction to elementary biometrics. S.I. Sidelev (ed.)]. Yarostavl', 2012 (in Russ.).
52. Semenova A.A., Nasonova V.V., Kuznetsova T.G., Nekrasov R.V. *Provedenie gistologicheskikh issledovaniy po vyvayleniyu miopatii. MR 001-00496254/00419779-2021* [Histological studies to identify myopathy. MP 001-00496254/00419779-2021]. Moscow, 2021 (in Russ.).
53. Kuttappan V.A., Hargis B.M., Owens C.M. White striping and woody breast myopathies in the modern poultry industry: a review. *Poultry Science*, 2016, 95(11): 2724-2733 (doi: 10.3382/ps/pew216).
54. Wojtysiak D. Pathological changes in the microstructure of *longissimus lumborum* muscle from five breeds of pigs. *Folia Biologica*, 2012, 60(1-2): 55-60 (doi: 10.3409/FB60_1-2.55-60).
55. Pirgozliev V.R., Mansbridge S.C., Westbrook C.A., Woods S.L., Rose S.P., Whiting I.M., Yovchev D.G., Atanasov A.G., Kljak K., Staykova G.P., Ivanova S.G., Karagecili M.R., Karadas F., Stringhini J.H. Feeding dihydroquercetin and vitamin E to broiler chickens reared at standard and high ambient temperatures. *Archives of Animal Nutrition*, 2020, 74(6): 496-451 (doi: 10.1080/1745039x.2020.1820807).
56. Zou Y., Wei H.K., Xiang Q.-H., Wang J., Zhou Y.-F., Peng J. Protective effect of quercetin on pig intestinal integrity after transport stress is associated with regulation oxidative status and inflammation. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2016, 78(6): 1487-1494 (doi: 10.1292/jvms.16-0090).
57. Williamson G., Kay C.D., Crozier A. The bioavailability, transport, and bioactivity of dietary flavonoids: a review from a historical perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2018, 17(5): 1054-1112 (doi: 10.1111/1541-4337.12351).
58. Peeters E., Neyt A., Beckers F., De Smet S., Aubert A.E., Geers R. Influence of supplemental magnesium, tryptophan, vitamin C, and vitamin E on stress responses of pigs to vibration. *Journal of Animal Science*, 2005, 83(7): 1568-1580 (doi: 10.2527/2005.8371568x).
59. Gao K., Luo Z., Han S., Li Z., Choe H.M., Paek H., Quan B., Kang J., Yin X. Analysis of meat color, meat tenderness and fatty acid composition of meat in second filial hybrid offspring of MSTN mutant pigs. *Meat Science*, 2022, 193: 108929 (doi: 10.1016/j.meatsci.2022.108929).
60. Lebedová N., Okrouhlá M., Zadinová K., Čítek J., Stupka R. Muscle fibre composition and meat quality in pigs with different nutrition level. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2018, 420: 012078 (doi: 10.1088/1757-899X/420/1/012078).
61. Lebedová N., Stupka R., Čítek J., Okrouhlá M., Zadinová K. Effect of feed restriction on muscle fibre characteristics and meat quality traits in pigs. *Agronomy Research*, 2019, 17(1): 176-185 (doi: 10.15159/ar.19.004).
62. Kim G.-D., Jeong J.-Y., Jung E.-Y., Yang H.-S., Lim H.-T., Joo S.-T. The influence of fiber size distribution of type IIB on carcass traits and meat quality in pigs. *Meat Science*, 2013, 94(2): 267-273 (doi: 10.1016/j.meatsci.2013.02.001).
63. Weng K., Huo W., Li Y., Zhang Y., Zhang Y., Chen G., Xu Q. Fiber characteristics and meat quality of different muscular tissues from slow- and fast-growing broilers. *Poultry Science*, 2021, 101(1): 101537 (doi: 10.1016/j.psj.2021.101537).
64. Shen L., Luo J., Lei H., Jiang Y.Z., Bai L., Li M.Z., Tang G., Li X.W., Zhang S.H., Zhu L. Effects of muscle fiber type on glycolytic potential and meat quality traits in different Tibetan pig muscles and their association with glycolysis-related gene expression. *Genetics and Molecular Research*, 2015, 14(4): 14366-14378 (doi: 10.4238/2015.November.13.22).