Аграрний вісник Причорномор'я. Випуск 87-2. Одеса-2018

УДК 636.4:612.8

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ В СПЕРМІ КНУРІВ-ПЛІДНИКІВ ПРИ ЗГОДОВУВАННІ ЛАКТАТІВ Zn, Se, Cu iFe

ШОСТЯ А.М.[1], РОКОТЯНСЬКА В.О.[1], ЦИБЕНКО В.Г.[1], СОКИРКО М.П.[1], НЕВІДНИЧИЙ О.С.[1], ЧИРКОВ О.Г.[1], КАПЛУНЕНКО В.Г.[2], ПАЩЕНКО А.Г.[3]

1 **- Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН**

2 - ТОВ «Наноматеріали і нанотехнології»

3 - Інститут біології тварин НААН

Висвітлено експериментальні дані щодо особливостей формування прооксидантно- антиоксидантного гомеостазу в спермі кнурів-плідників при згодовуванні аквахелатів мікроелементів. Встановлено, що додаткове згодовування лактатів Zn, Se, Cu iFe сприяє збільшенню об'єму еякуляту, концентрації сперміїв, їх рухливості та виживаності. При цьому відбувається оптимізація перебігу процесів пероксидного окиснення у спермі за рахунок підсилення системи антиоксидантного захисту: збільшення вмісту відновленого глутатіону і аскорбінових кислот, активності супероксиддисмутази та каталази.

Ключові слова: сперма, кнури, спермопродукція, пероксиднеокиснення, ТБК-активнікомплекси.

Проявлення високого потенціалу продуктивності кнурів-плідників та їх нащадків в істотній мірі залежить від рівня перебігу метаболічних процесів, які в істотній мірі обумовлюються їх живленням. Найбільш чутливою до кормового фактору у кнурів-плідників є репродуктивна система. Особлива роль у забезпеченні високої якості спермопродукції належить мікронутрієнтам [1, 9, 11, 15].

Значний інтерес представляють дослідження із впливу різних факторів на репродуктивну здатність тварин. І тепер малодослідженим залишається питання впливу комплексних наноаквахелатів мікроелементів на кількісні і якісні показники спермопродукції [12]. Ці речовини,входячи до складу активних центрів ферментів, гормонів, вітамінів та інших біологічно важливих сполук, беруть безпосередню участь в проміжному обміні речовин,

впливаючи на основні функції організму (ріст, розвиток, відтворення). В організм мікроелементи надходять з кормом, водою і повітрям [13].

Багато мікроелементів, таких як цинк, мідь, залізо, і селен, впливають на кількісні і якісні показники спермопродукції. Дослідження вчених Massanyi P., Trandzik J., Nad P., [14] показують, що дефіцит мікроелементів негативно впливає на об'єм еякуляту, концентрацію сперматозоїдів і їх рухливість.

У складі більшості премікси використовують неорганічні форми мікроелементів у вигляді хлоридів, сульфатів та оксидів, які погано засвоюються і використовуються тваринами, через їх природню адаптацію до засвоєння органічних хелатних форм мінералів з рослинних кормів. Низька засвоюваність мікроелементів із хлоридів і сульфатів підвищує ризик забруднення навколишнього середовища.

Тому одним із засобів покращення використання мікроелементів тваринним організмом є широке застосування мінералів у комплексі з органічними речовинами, особливо в окремих біогеохімічних зонах України [8].

Мета досліджень - встановити особливості формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в спермі кнурів-плідників при згодовуванні лактатів Zn, Se,

Аграрний вісник Причорномор’я. Випуск 87-2. Одеса-2018

Cu iFe.

Матеріал і методи досліджень. Експерименти були проведені в умовах лабораторії фізіології відтворення Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН України та племінного заводу з розведення свиней великої білої породи ДП ДГ «Степне» ІС і АПВ НААН. Для досліду були відібрані 9 дорослих кнурів-плідників великої білої породи віком від 18 до 36 місяців, аналогів за якістю спермопродукції. Дослідження проводили за методом груп-періодів. Тривалість експерименту становила 120 діб, у тому числі: підготовчий – 30, основний – 60(згодовування лактатів Zn,Se, Cu і Fe) і заключний – 30 діб. Вимірювання зміни величини показників проводили через кожні 30 діб від його початку.

Сперму від кнурів одержували мануальним методом, один еякулят на 3 доби. Якість спермопродукції оцінювали за: об’ємом еякуляту, концентрацією і рухливістю сперміїв, а також їх виживаністю протягом трьох годин при температурі 38 С (терморезистентна проба) згідно з Інструкцією зі штучного

осіменіння свиней [6]. За цими показниками були сформовані три групи-аналоги тварин – I (контрольна) та II і III (дослідні), по три кнурці у кожній.

В основному періоді досліду раціон тварин контрольної групи залишався без змін, а двох дослідних – з добавкоюлактатів Zn, Se, Cu iFe. Рівень даних біологічно активних компонентів у раціоні другої і третьої дослідних груп був вищим, відповідно, на 10 % і 20 % порівняно з контрольною групою.

Для оцінки рівня перебігу пероксидного окиснення визначали у спермі: концентрацію дієнових кон'югатів - спектрофотометрично [3] і ТБК-активних комплексів (альдегіди і кетони) – фотоелектроколориметрично [4]. Рівнь антиоксидантного захисту визначали за: активністю супероксиддисмутази (СОД) – фотометрично [2]; активністю каталази (КТ) по методиці з використанням ванадій- молібдатной реакції [5], вмістом відновленої форми глутатіона - фотоелектроколориметрично з реактивом Елмана [10]; концентрацію аскорбіновою і дегідроаскорбінової кислот - за кількістю озозонів модифікованим методом [7].

Отриманий цифровий матеріал статистично опрацьовували за допомогою програми Statistica для Windows XP. Після порівняння досліджуваних показників та їхніх міжгрупових різниць використовували t-критерій Ст’юдента, а результат вважали вірогідним за $p<0,05$.

Результати досліджень. Отримані дані свідчать про те, що після згодовування лактатів Zn,Se, Cu iFey складі кормосуміші кнурам-плідникам II групи порівняно із контрольною - об’єм еякуляту був більшим на 29,2 % (60-та доба), концентрація сперміїв - 21,74 %(30-та доба), рухливість - 7,21 %(30-та доба), виживаність – 17,10 %(60-та доба), та загальна кількість сперміїв – 33,58 %(30-та доба) (табл.1).

У представників III групи порівняно з контролем на 30-у добу після згодовування досліджуваних мікроелементів показники спермопродукції були вищими: об’єм еякуляту на 63,47 % ($p<0,0160$-та доба), концентрація сперміїв - 28,69 % (30-та доба), рухливість 11,34 % (30-та доба), виживаність – 32,46 % (60-та доба).

По закінченню згодовування лактатів (заключний період) кнури-плідники II групи характеризувались вищою концентрацією сперміїв в еякуляті,на 19,16 %, та загальною кількістю сперміїв у ньому, на 29,08 %. У тварин III групи концентрація сперміїв в еякуляті була більшою на 26,42 % та загальна кількість сперміїв в еякуляті -38,94 %.

1.Вплив лактатів Zn,Se, Cu iFe на якість сперми кнурців, M ± m,n=6

Групи

Підготовчий

період

Основний період

Заключний період

30- та доба

60-та доба

Об’єм еякуляту, см3

1

217,75±28,18

190,16±15,68

178,5±12,95

233,28±25,32

2

192,58+21,99

208,66±23,75

230,66±25,72

252,66±15,03

3

222,75±27,23

270,35±13,06**

291,81±22,50**

230,95±16,36

Концентрація спермiїв, млн/см3

1

178,33±11,41

191,66±14,52

181,66±11,99

160,83±12,72

2

214,66±13,88

233,33±22,84

196,66±15,90

191,66±21,27

3

183,33±15,03

246,66±15,47

214,66±22,19

176,66±26,00

Рухливість спермiїв, %

1

83,33±1,67

80,83±2,59

80,00±1,29

81,66±2,11

2

84,16±2,39

86,66±1,67

82,50±3,01

83,33±2,11

3

79,16±3,01

90,00±1,29*

86,66±1,05

80,83±0,83

Терморезистентність, %

1

79,16±3,01

63,33±2,11

60,83±3,28

70,83±3,28

2

73,33±2,11

74,16±2,01

70,83±0,83

73,33±2,11

3

74,16±2,01

81,66±1,67

80,83±3,28

69,16±3,01

Загальна кількість спермiїв

1

38,83±2,38

36,44±2,47

32,42±0,28

37,51±2,28

2

41,33±1,45

48,68±3,87

45,36±3,77

48,42±4,81

3

40,83±1,25

66,67±5,66**

62,63±7,16

40,79±5,91

Примітка: *-p <0,05; **-p <0,01; ***-p <0,001- порівняно з контрольною групою

Рівень ензимних антиоксидантів протягом дослідного періоду коливався залежно від згодовуваної дози лактатів (табл. 2). Встановлено, що у кнурів-плідників контрольної групивідбувалось зниження рівня СОД у спермі на 35,75 %. Активність цього ензиму в спермі тварин II і III груп,яким згодовувалилактатина 60- ту добу основного періоду була більшою відповідно на 106,65(p<0,01) і 82,92 % порівняно з контролем.

Активність КТ у спермі кнурів II і III груп протягом основного періоду була найвищою, відповідно, на 24,61 і 33,84 % за контрольну групу. Ці зміни відбувались на тлі зменшення рівня активності цього ензиму.

У результаті згодовування лактатів активність СОД у тварин дослідних груп була вищою відносно контрольної групи. Різниця активності КТ у дослідних груп кнурців по закінченні експерименту істотно зменшувалась.

Концентрація дієнових кон’югатів у спермі кнурів контрольної групи протягом експерименту зростала. Вживання тваринами II і III груп наноаквахелатів мікроелементів збільшувало вміст первинних продуктів пероксидації на 30-у добу експерименту відповідно на 25,95 і 68,77 % порівняно з контролем. Така закономірність зберігалася до 60-ї доби експерименту.

У спермі кнурців рівень ТБК-активних сполук у контрольній групі, збільшувався до максимальних значень на 60-у добу на 6,17 % порівняно з його величиною на початку експерименту (30-а доба). У представників II і III групконцентрація цього метаболіту

впродовж основного періоду перевищувала з контрольним на 34,89 та 42,96 % (30-а доба).

2.Вплив лактатів Zn,Se, Cu iFe на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у спермі кнурів, M ± m, n=6

Показники

Групи

Підготовчий

період

Основний період

Заключний

період

30-та доба

60-та доба

Супероксид- дисмутаза,

у.о./мл

1

0,700+0,060

0,677+0,097

0,450+0,098

0,740+0,13

2

0,580+0,11

0,838+0,20

0,930+0,080***

0,920+0,050

3

0,745+0,15

0,732+0,13

0,825+0,23

0,970+0,080

Каталаза, H2O2/хв./л

1

8,7+0,67

4,80+0,84

6,50+0,23

6,30+0,29

2

8,10+0,48

5,60+1,64

8,10+0,77

7,00+0,63

3

9,40+0,47

6,70+1,20

8,70+0,94

9,40+0,39

Дієнові кон’югати, мкмоль/л

1

7,10+1,70

8,36+2,00

11,26+3,35

10,68+2,05

2

4,43+0,69

10,53+2,26

11,91+1,96

11,32+2,33

3

3,94+0,29

14,11+3,64

14,58+2,36

9,60+2,05

ТБК-активні сполуки мкмоль/л

1

15,22+1,83

12,15+0,39

16,16+2,04

12,57+0,61

2

18,53+1,93

16,39+1,72

19,58+2,00

10,87+1,67

3

13,51+1,34

17,37+1,57

19,86+1,83

9,45+0,54

Примітка: *-p <0,05; **-p <0,01; ***-p <0,001- порівняно з контрольною групою

Отже, вміст дієнових кон'югатів і ТБК-активних сполук істотно зростав у тварин, що отримували лактати протягом основного періоду, до закінчення експерименту він зменшувався особливо у представників ІІІ групи.

По закінченню 30-ї доби основного періоду рівень глутатіону у досліджуваній тканині кнурів-плідників ІІ і ІІІ груп був більший, відповідно, на 29,64 % і 39,29 %, ніж в контрольній групі. У спермі тварин контрольної групи впродовж основного періоду рівень відновленого глутатіону збільшувався (табл. 3).

Позакінченні основного періоду згодовування даних мікроелементів кнурам-плідникам ІІ і ІІІ груп, порівняно з контролем спостерігалось підвищення кількості аскорбінової кислоти на 60-ту добу, відповідно на 37,23 (p <0,01) та 50,99% (p<0,05). Концентрація аскорбінової кислоти в контрольній групі впродовж основного періоду зменшувалась на 39,23 % (30-та доба) із наступним зростанням (60-та доба).

Вміст дегідроаскорбінової кислоти у тварин контрольної був нижчим за рівень аскорбінової кислоти. Вживання кнурами дослідних груп лактатів призводило до збільшення кількості аскорбінових кислот: максимальних показників вони досягали на 60-ту добу, що на 48,33 та 74,70 % більше порівняно з контролем.

Вміст бета- та пре- бета ліпопротеїдів у період згодовування мікроелементіву спермі істотно зростав, до 30-ї доби, а потім почав зменшуватися. Це свідчить про насичення сперми субстратами для перебігу пероксидного окиснення. У заключний період експерименту такі зміни проходять на тлі істотного зниження вмісту відновлених форм глутатіону та аскорбінової кислоти.

Аграрний вісник Причорномор'я. Випуск 87-2. Одеса-2018

3.Вплив лактатів Zn,Se, Cu і Fe на вміст неензимних антиоксидантів у спермі

кнурів, M ± m, n=6

Показники

Групи

Підготовчий період

Основний період

Заключний період

30-тадоба

60-та доба

Відновлений глутатіон, мкмоль/л

1

0,605+0,026

0,425+0,053

0,666+0,069

0,585+0,029

2

0,548+0,024

0,551+0,040

0,759+0,040

0,638+0,094

3

0,499+0,023

0,592+0,026

0,815+0,065

0,692+0,045

Аскорбінова кислота, ммоль/л

1

13,66+2,25

8,30+0,76

12,06+1,51

10,06+1,44

2

9,46+1,00

10,53+0,72

16,55+0,24**

13,13+1,64

3

10,36+0,15

13,37+0,79

18,21+1,62*

13,20+0,88

Дегідроаскорбінова кислота, ммоль/л

1

17,73+1,22

4,86+1,19

10,20+1,21

8,33+0,40

2

5,73+1,15

9,13+0,26

15,13+0,48

13,26+0,88

3

4,16+0,75

10,66+0,80

17,82+1,95

15,63+1,44

Вміст бета-та пре- бета- ліпопротеїдів, г/л

1

6,22+0,45

4,48+0,67

4,17+0,77

4,59+1,10

2

4,92+0,34

5,43+0,25

4,92+0,34

4,35+0,68

3

3,58+0,36

6,22+0,45

5,86+0,11

4,15+0,56

Примітка: *-p <0,05; **-p <0,01; ***-p <0,001- порівняно з контрольною групою

Висновки

1. Згодовування кормосуміші з додаванням лактатів Zn,Se, Cu і Fена 10 % більше від норми кнурам-плідникам порівняно з контрольною групою, збільшує концентрацію сперміїв на 21,7 %, загальну кількість сперміїв - 33,6% і підвищує рухливість сперміїв 7,2 %на 30-ту добу експерименту. Такий ефект зберігається до закінчення основного періоду і проявляється у збільшенніоб'єму еякуляту на 29,2 % та виживаності сперміїв - 17,1 %.

2. Згодовування кормосуміші з додаванням лактатів мікроелементів на 20 % більше від норми кнурам-плідникам порівняно з контрольною групою позитивно впливає на отримання біологічно-повноцінних еякулятів відносно контрольної групи, що проявляється у вигляді вищої рухливості сперміїв на 11,3 %($p<0,05$), концентрації сперміїв -28,7 % та загальної кількості сперміїв на 82,95 %($p<0,01$) на 30-ту добу. Дана закономірність зберігається до закінчення основного періоду та виражається у отриманні більшого об'єму еякуляту на 63,4 % та кращій виживаності сперміїв на 32,5 %.

3. Згодовування лактатів досліджуваних мікроелементів у складі кормової суміші кнурам-плідникамII-ї і III-ї груп відносно контрольної істотно оптимізує перебіг процесів пероксидного окиснення у спермі за рахунок підсилення системи антиоксидантного захисту: переважання вмісту відновленого глутатіону відповідно на 29,6 % і 39,2 %, активності супероксиддисмутази на 106,6 ($p<0,001$) і 82,9 % та каталази 24,6 і 33,8% по закінченню основного періоду експерименту.

4. Позитивний ефект на якісні і кількісні показники спермопродукції кнурів-плідників після додаткового згодовування лактатів мікроелементів в кількості 10 % понад норми триває, щонайменше 30 діб, що проявляється у більшій концентрації, рухливості та виживаності сперміїв.

Аграрний вісник Причорномор'я. Випуск 87-2. Одеса-2018

Література

1. Борисевич В.Б. Борисевич Б.В. Каплуненко В.Г. [та ін.]. Наноматеріали і нанотехнології у ветеринарній медицині : навч.-практ. посібник / В. Б. Борисевич, Б. В. Борисевич, В. Г. Каплуненко [та ін.]. – Київ : ВД “Авіцена”, 2012. – 277 с.

2. Брусов О.С. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина / О.С. Брусов, А.М. Герасимов, Л.Ф. Панченко //Бюлл. эксп. биол. и мед. – 1976. – № 1. –С.33-35.

3. Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б., Гаврилов, М.И. Мелкорудная // Лаб. дело. – 1983. –№3. – С. 33–36.

4. Кайдашев І. П. Посібник з експериментально–клінічних досліджень з біології та медицини І. П. Кайдашев. – Полтава, 1996. – С. 123 - 128.

5. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л. И.Иванова, И. Г. Майорова, Е. В. Токарев, // Лабораторное дело. – 1988. - № 1. – С. 16 - 19

6. Мельник Ю.Ф. Інструкція із штучного осіменіння свиней Ю.Ф Мельник. – К.: Аграрна наука. – 2003. – 56 с. 7. Пат. № 67054А Україна, А61В5/00. Спосіб прискореного визначення вмісту С та його ізомерів у спермі кнурів / Коваленко В.Ф, Шостя А.М., Усенко С.О.; заявник і патентовласник Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН; заявл.13.06.2003; опубл. 15.06.2004, Бюл. №6. 8. Свеженцов А. И. Комбикорма, премиксы, БВМД для животных и птицы / А. И. Свеженцов, С. А. Горлач, С. В. Мартыняк – Днепропетровск: АРТ-ПРЕСС, 2008. – 412 с.

9. Шостя А. М. Роль активних форм кисню в регуляції сперматогенезу та заплідненні у ссавців / А. М. Шостя // Український біохімічний журнал. – 2009. – Т. 81. – № 1. – С. 14–22.

10. Шостя А.М. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у плазмі та спермі кнурців у період становлення статевої функції / А. М. Шостя // Свинарство: міжвід. темат. наук. зб. – Полтава, 2014 – Вип. 64. – С. 124–132.
11. Шостя А. М., Рокотянська В. О., Невідничий О. С., Цибенко В. Г., Сокирко М. П., Гиря В. М. Особливості формування прооксидантно антиоксидантного гомеостазу в спермі кнурів-плідників при згодовуванні вітамінної добавки., Вісник Сумського національного аграрного університету,.// Серія «Тваринництво», випуск 2 (34), 2018 С 260-264. 12. Ghorbani A., Mehdi Moeini M., Souri M., Hajarian H., / Influences of dietary

selenium, zinc and their combination on semen characteristics and testosterone concentration in mature rams during breeding season.,/ Journal Of Applied Animal Research, 2018 Vol. 46, No. 1, 813–819. 13. Mankad, M., Sathawara, N.G., Doshi, H., Saiyed, H.N., and Kumar, S. Seminal plasma zinc concentration and alpha-glucosidase activity with respect to semen quality. Biol Trace Elem Res. 2006;2: 97–106 14. Massanyi, P., Trandzik, J., Nad, P., Korenekova, B., Skalicka, M., Toman, R. et al. Concentration of copper, iron, zinc, cadmium, lead, and nickel in bull and ram semen and relation to the occurrence of pathological spermatozoa. J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. 2004; 39: 3005–3014 15. Horký1 P., Zeman L., Skládanka J., Nevrkla P., Sláma P, Effect Of Selenium, Zinc, Vitamin C And E On Boar Ejaculate Quality At Heat Stress,/ Acta Universitatis Agriculturae Et Silviculturae Mendelianae Brunensis.,/ Number 4, Vol 64,- 2016,- P 1167-1172.

А. М. Шостя, В. А.Рокотянська, В. Г. Цыбенко, М. П.Сокирко, А. С. Невидничий, А. Г. Чирков, В. Г. Каплуненко, А. Г. Пащенко. Особенности формирования прооксидантно- антиоксидантного гомеостаза в сперме хряков-производителей при скармливании лактатов Zn, Se, Cu і Fe.

Изложены экспериментальные данные относительно особенностей формирования прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза в сперме хряков-производителей при скармливании аквахелатов микроэлементов. Установлено, что дополнительное скармливание лактатов Zn, Se, Cu и Fe способствует увеличению объема еякулята, концентрации спермиев, их подвижности и выживаемости. При этом происходит оптимизация протекания процессов перекисного окисления в сперме за счет усиления системы антиоксидантной защиты: увеличение содержимого восстановленого глутатиона и аскорбиновых кислот, активности супероксид дисмутаза и каталаза.

Аграрний вісник Причорномор’я. Випуск 87-2. Одеса-2018

Ключевые слова: сперма, хряки, спермопродукция, перекисное окисление, ТБК-активные комплексы.

A. M. Shostya, V. O. Rokotianska, V. G. Tsybenko, M. P. Sokyrko, O. S. Nevidnychyi, O. G. Chyrkov,

V. G. Kaplunenko, A. G. Pashchenko. Peculiarities of the formation of the prooxidant- antioxidant homeostasis in boars’spermat feeding with lactates of Zn, Se, Cu, Fe. It is reflected the experimental data relatively peculiarities of the formation of prooxidant-antioxidant homeostasis in boars’ sperm at feeding with

aquahelates of microelements. It has been determined that additional feeding with lactates of Zn, Se, Cu, Fe promotes an increase in the volume of ejaculate, sperm concentration, their mobility and survival. At the same time, the process of peroxide oxidation in sperm is optimized by strengthening the antioxidant defense system: increasing the content of renewed glutathione and ascorbic acids, the activity of superoxide dismutase and catalase. Key words: sperm, boars, sperm production, peroxidation, TBA-active complexes.