

ОБМІН РЕЧОВИН ЗА СТИМУЛЯЦІЇ ВІДТВОРЮВАЛЬНОЇ ЗДАТНОСТІ КРОЛИЦЬ ПРЕПАРАТОМ ОРГАНІЧНИХ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ У ФОРМІ ЛІПОСОМАЛЬНОЇ ЕМУЛЬСІЇ

О. В. ШТАПЕНКО*, І.І. ГЕВКАН, Ю. І. СЛИВЧУК, В.Я. СИРВАТКА

*Інститут біології тварин НААН,
лабораторія біотехнології відтворення,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034
e-mail: shtapenko31@gmail.com

Забезпечення повноцінної годівлі кролиць у період сукрільності пов'язано зі збільшенням потреби у поживних речовинах для успішного перебігу вагітності та розвитку плодів. Доведена важливість мікроелементного статусу на клінічний стан, метаболічний статус та репродуктивну здатність організму. До мікроелементів, які беруть участь у регуляції біохімічних процесів в організмі, впливають на активність багатьох ферментів та гормонів належать цинк, мідь, манган та хром. Застосування біогенних металів у формі хелатних сполук з амінокислотами забезпечує вищу біологічну доступність мікроелементів, що дозволяє підвищувати плодючість, продуктивність тварин і збільшити поголів'я. Мета роботи – встановлення впливу згодовування кролицям ліпосомального препарату органічних мікроелементів перед осіменінням на метаболічний профіль крові та показники відтворювальної здатності. Дослідження проводили на кролематках, які, за принципом аналогів, поділили на дві групи по 5 голів у кожній. Кролиці контрольної групи утримувались на основному раціоні господарства, тоді як тваринам дослідної групи за 14 днів до осіменіння додатково згодовували 5 г гранульованого комбікорму в добу, до складу якого вводили ліпосомальний препарат органічних сполук цинку, мангану та хрому в дозі 1 мл/голову. Кролиць усіх груп штучно осіменяли після синхронізації та гормональної обробки. Матеріалами досліджень слугували сироватка крові та тканини репродуктивних органів, які відбирали на 14-ту добу сукрільності після забою кролематок. Згодовування препарату органічних сполук мікроелементів у формі ліпосомальної емульсії суттєво не впливало на деякі досліджувані біохімічні показники і вірогідних змін активності ензимів АлАТ (КФ 2.6.1.2), АсАТ (КФ 2.6.1.1) та ЛФ(КФ 3.1.3.1) між контрольною та дослідною групами не виявлено. Проте активність ГГТ (КФ 2.3.2.2) та ЛДГ (КФ 1.1.1.27) у сироватці крові кролиць дослідної групи вірогідно була вищою за відповідний показник у тварин контрольної групи. Встановлено відмінності досліджуваних показників відтворювальної здатності кролематок контрольної та дослідної групи. Результати досліджень показали, що додавання до корму кролицям дослідної групи препарату органічних сполук мікроелементів у формі ліпосомальної емульсії за 14 днів до осіменіння сприяє збільшенню кількості жовтих тїл вагітності, місць імплантацій та кількості живих плодів, порівняно до аналогічних показників контрольної групи. У кролиць дослідної групи відсоток доімплантаційної та постімплантаційної загибелі плодів також був нижчий. Отже, додавання до корму кролематкам ліпосомального препарату органічних сполук мікроелементів до осіменіння стимулює білковий та вуглеводний обміни та забезпечує оптимальні умови для імплантації та розвитку плодів.

Ключові слова: кролиці, органічні мікроелементи, ембріогенез, ліпосомальний препарат, заплідненість, біохімічні показники

Вступ. Успішний розвиток кролівництва відбувається, насамперед, завдяки ефективному використанню кормової бази та сучасних технологій утримання і годівлі, що дає змогу підвищувати продуктивність тварин і збільшити поголів'я кролів. Для компенсації нестачі мікроелементів у раціоні їх, зазвичай, вводять до корму у неорганічній формі. Однак така форма сполук недостатньо ефективна, оскільки біологічна доступність мікроелементів із неорганічних солей низька і становить не більше 20-30 % (Агій, 2011). Тому практичного значення набуває пошук можливості введення біогенних металів у формі хелатних сполук з амінокислотами (Кебец, 2006). Одним із Біологічні системи. Т. 9. Вип. 2. 2017

найважливіших есенціальних мікроелементів, який впливає на процеси росту та розвитку організму, функціонування імунної, статеві, травної, нервової систем (Тронько та ін., 2013), підвищує стійкість до інфекцій і новоутворень є цинк. Він є структурним компонентом біологічних мембран, клітинних рецепторів, протеїнів, входить до складу понад 200 ензимів (Bernhardt et al., 2011). Біологічна роль цинку в організмі реалізується через участь у метаболізмі білка, процесах енергетичного обміну, обміні тестостерону, сперматогенезі, біосинтезі гема, синтезі та стабілізації нуклеїнових кислот і білків, проліферації та диференціювання клітин,

підтриманні антиоксидантного статусу (Антоняк та ін., 2011; Трахтенберг, 2013).

До життєво важливих мікроелементів для тварин належить марганець (Скальний, Рудаков, 2004; Прімова, 2014). Він бере активну участь в окисно-відновних процесах та тканинному диханні, впливає на формування кісток, ріст і розмноження тварин, а також на процеси кровотворення, регулює функцію ендокринних залоз, посилює дію вітамінів, входить до складу низки ферментів та є їх активатором (Cetin et al., 2010; Марушко та ін., 2013).

При використанні біологічно активних препаратів важливим є вивчення біохімічних змін в організмі тварин за їх впливу. Відомо, що всі зміни, які відбуваються в організмі тварин, позначаються на біохімічному складі крові (Скальний, 2001). Тому аналіз біохімічних показників крові та відтворювальної здатності кролиць дасть можливість визначити ефективність досліджуваного нами препарату у формі ліпосомальної емульсії.

Мета досліджень – вивчення метаболічного профілю крові та показників відтворювальної здатності за згодовування кролицям препарату у формі ліпосомальної емульсії на основі органічних сполук мікроелементів перед осіменінням.

Матеріали та методи. Дослід проводили на кролематках породи Карпатський паннон, які належали Мукачівському ПП «Паннон Карпатський». Тварин відібрано за принципом аналогів і поділено на дві групи по 5 голів у кожній. Усі кролематки утримувалися на основному раціоні (ОР) господарства. Тваринам дослідної групи для підвищення запліднюваності самиць за 14 діб до осіменіння згодовували 5 г гранульованого комбікорму на добу, до складу якого введено препарат органічних сполук мікроелементів у формі ліпосомальної емульсії в дозі 1 мл/голову. До складу ліпосомального емульсії належали органічні сполуки мікроелементів – глутамат цинку та мангану, хром-метіонін, а також селеніт натрію, фосфоліпіди та вітаміни А, Д₃, Е. Кролиць усіх груп штучно осіменяли після синхронізації та гормональної обробки згідно з методиками, використовуваними в господарстві. На 14 добу

сукрільності тварин забивали і відбирали зразки крові та тканини репродуктивних органів для біохімічних досліджень.

Для встановлення динаміки обмінних процесів за умов застосування препарату здійснювали дослідження біохімічних показників крові на біохімічному аналізаторі Humalyzer 2000.

Ефективність дії ліпосомального препарату на відтворювальну функцію кролематок оцінювали після проведення морфометричної оцінки репродуктивних органів, візуального виявлення наявності жовтих тіл вагітності, місць імплантації та резорбції.

Статистичну обробку результатів виконували за допомогою програми Microsoft Excel 2013. Достовірність різниці між показниками оцінювали з використанням параметричного t-критерію Ст'юдента. Різницю між порівнювальними величинами вважали вірогідною за $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Аналізуючи результати досліджень (табл. 1) виявлено, що вміст глюкози у тварин дослідної групи, яким згодовували препарат у формі ліпосомальної емульсії був на 2,9% нижчим порівняно з контрольною групою. Це пояснюється збільшенням енергетичних потреб, які інтенсифікують дисиміляцію глюкози, натомість вміст загального протеїну в контрольній і дослідній групах був майже однаковим в обох групах кролиць.

Зміни рівня глюкози при сукрільності пов'язані із підвищенням енергоємних біосинтетичних процесів, значною перебудовою гормонального статусу, зокрема посиленою секрецією інсуліну. Глюкоза також важливий компонент ембріотрофу – живильного середовища для зародків (Шеремета та ін., 2015).

У тварин дослідної групи вміст сечовини перевищував відповідний показник контрольної групи на 9,34%, проте вірогідної різниці не виявлено. Застосування препарату у формі ліпосомальної емульсії у підготовчий період до осіменіння кролематок впливає на підвищення активності ензимних систем, які беруть участь у процесі синтезу сечовини.

Активність амінотрансфераз відіграє важливу

Таблиця 1
Біохімічні показники сироватки крові кролематок за згодовування ліпосомального препарату органічних мікроелементів, $M \pm m$, $n=5$

Групи тварин	Сечовина, ммоль/л
Контроль	8.56 ± 0.29
Дослідна група	9.36 ± 0.30

Table 1
Effects of supplementing diets with organic microelements in liposomal form on some blood biochemical parameters, $M \pm m$, $n=5$

Глюкоза, ммоль/л	Загальний білок, г/л
4.83 ± 0.25	57.46 ± 1.30
4.69 ± 0.21	57.6 ± 0.67

роль у метаболізмі амінокислот та вказує на використання вільних амінокислот в енергетичних процесах. Як показали проведені нами дослідження, згодовування препарату органічних сполук мікроелементів у формі ліпосомальної емульсії спричинило зниження активності АЛАТ та АсАТ у крові кролематок дослідної групи, проте вірогідної різниці порівняно з контрольною групою не виявлено (табл. 2). Коефіцієнт Де-Рітиса у крові кролиць контрольної та дослідної груп суттєво не відрізнявся і залишався у межах встановленої норми, що вказує на відсутність в організмі кролематок значних функціональних порушень.

Додавання до корму кролицям другої групи препарату у формі ліпосомальної емульсії впродовж 14 днів до осіменіння спричинило вірогідне підвищення активності гамма-глутамат-трансферази у крові кролиць дослідної групи ($p < 0,01$) порівняно до показника контрольної групи. Підвищення активності ЛФ у кролиць другої групи не було вірогідним і зумовлене підвищеною потребою в кальції та вказує на інтенсивність процесів дефосфорилювання гексоз та інших фосфоровмісних сполук у тканинах у ранній період сукрільності, оскільки ЛФ задіяна у процесах фосфорно-кальцієвого обміну в організмі (Ветеринарна ..., 2002).

Активність ЛДГ у сироватці крові кролиць дослідної групи вірогідно була вищою за відповідний показник у тварин контрольної групи ($p < 0,05$). Підвищена активність ЛДГ вказує на активацію гліколітичних процесів у організмі тварин за рахунок введеного до корму препарату, до складу якого входив цинк глутамат, оскільки, як відомо, ЛДГ є цинквмісним ензимом.

Встановлені відмінності досліджуваних біохімічних показників крові у контрольній та дослідній групах кролематок підтверджуються показниками їх відтворювальної здатності. Результати досліджень показали, що додавання до корму кролицям дослідної групи препарату органічних сполук мікроелементів у формі ліпосомальної емульсії за 14 днів до осіменіння сприяє збільшенню кількості жовтих тіл вагітності, місць імплантацій та кількості живих плодів, порівняно з аналогічними показниками контрольної групи. Наприклад, кількість жовтих тіл вагітності та місць імплантацій у дослідній групі становила відповідно $11,0 \pm 0,45$ та $10,6 \pm 0,74$ проти $10,4 \pm 0,67$ та $9,4 \pm 0,4$ у контролі (табл. 3). Додавання препарату органічних сполук мікроелементів у формі ліпосомальної емульсії спричинило збільшення на 13,9% кількості живих ембріонів порівняно з контрольною групою. У кролиць дослідної групи встановлено у 1,5 рази нижчий відсоток доімплантаційної загибелі плодів порівняно з показником контрольної групи, що, на нашу думку, пов'язано з тривалим позитивним впливом додаткового згодовування препарату у формі ліпосомальної емульсії.

Проведені дослідження показали, що відсоток постімплантаційної загибелі плодів у дослідній групі був удвічі нижчим, ніж у контролі. Так, у дослідній групі постімплантаційна летальність становила 2,0 %, натомість у контрольній групі цей показник сягав рівня 4,44%. Загальна ембріональна смертність плодів у дослідній групі знижувалася порівняно з контролем, в основному, за рахунок доімплантаційної летальності.

Таблиця 2.
Активність ензимів у сироватці крові кролематок за згодовування ліпосомального препарату органічних мікроелементів, $M \pm m$, $n=5$

Table 2.
Effect of supplementing diets with organic microelements in liposomal form on enzymes activity, $M \pm m$, $n=5$

Групи тварин	Аланін-амінотрансфераза, ІО/л	Аспартат-амінотрансфераза, ІО/л	Коефіцієнт де Рітиса	Лужна фосфатаза, ІО/л	Лактат-дегідрогеназа, ІО/л	Гамма-глутаміл-трансфераза, ІО/л
Контроль	48.46 ± 1.68	53.78 ± 3.38	1.11	116.80 ± 6.03	573.48 ± 20.76	8.76 ± 0.26
Дослідна група	46.74 ± 2.39	50.28 ± 2.70	1.08	135.06 ± 11.96	$766.02 \pm 56.72^*$	$10.66 \pm 0.42^{**}$

Примітка: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – вірогідність змін у порівнянні з контрольними показниками
Note: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – probability of changes in comparison with control parameters

Таблиця 3.
Показники відтворювальної здатності кролематок,
 $M \pm m, n=5$

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Кількість жовтих тіл на одну самку	10,4±0,67	11,0±0,45
Кількість місць імплантацій	9,4±0,4	10,6±0,74
Кількість живих плодів	8,6±0,4	9,8±0,49
Кількість місць резорбцій	0,4±0,24	0,2±0,18
Доімплантаційна летальність, %	13,46	9,09
Постімплантаційна летальність, %	4,44	2,0
Загальна ембріональна смертність, %	17,31	10,91

Table 3.
Reproductive ability of rabbit females, $M \pm m, n=5$

Висновки. Додавання до корму кролематкам препарату органічних сполук мікроелементів у формі ліпосомальної емульсії за 14 днів до осіменінням дозою 20 мл підвищує білковий та вуглеводний обміни, що забезпечує оптимальні умови для імплантації та розвитку плодів, і збільшує кількість живих плодів на 13,9 %, а також знижує на 6,4 % загальну ембріональну смертність.

Список літератури:

1. Агій В. М. Хелатні та мінеральні сполуки у годівлі молодняку ВРХ // Науково-технічний бюлетень. – 2011. – Вип. 12, №1-2. – С. 107–111.
2. Антоняк Г. Л., Важненко О.В., Бовт В.Д., Стефанишин О.М., Панас Н.Є. Біологічна роль цинку в організмі людини і тварин // Біологія тварин. – 2011. – Т. 13, № 1-2. – С. 17–31.
3. Ветеринарна клінічна біохімія: Монографія / за редакцією В.І. Левченка. – Біла Церква, 2002. – 400 с.
4. Кебец Н. М. Синтез смешаннолигандных комплексов металлов с витаминами и аминокислотами и изучение их биологических свойств на животных : Автореф. дис. докт. биол. наук. / Н. М. Кебец. — М., 2006. – 35 с.
5. Марушко Ю.В., Галинєвська О.В. Значення порушень вмісту марганцю у клінічній практиці // Дитячий лікар. – 2013. – 4 (25). – С. 35–39.
6. Прімова Л.О. Метаболізм вітамінів і мінеральних речовин / Л.О. Прімова, І.Ю. Висоцький – Суми: Сумський державний університет, 2014. – 256 с.
7. Скальный А.В., Рудаков И.А. Биоэлементы в медицине. – М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004. – 272 с.
8. Скальный А.В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение). – М.: Изд-во КМК, – 2001. – 96 с.
9. Трахтенберг І. М., Чекман І. С., Линник В. О., Каплуненко В. Г., Гуліч М. П., Білецька Е. М., Шаторна В. Ф., Онул Н. М. Взаємодія мікроелементів: біологічний, медичний і соціальний аспекти // Вісник Національної академії наук України. – 2013. – № 6. – С. 11-20.
10. Тронько М.Д., Полумбрик М.О., Ковбаса В.М., Кравченко В.І., Бальон Я.Г. Біологічна роль цинку і необхідність забезпечення адекватного рівня

його споживання людиною // Вісник НАН України. – 2013. – № 6. – С.21–31.

11. Шеремета В. І., Грунтковський М. С., Каплуненко В. Г. Біохімічні показники крові самок великої рогатої худоби за використання біологічно активних препаратів // Біологія тварин. – 2015. – Т. 17, № 2. – С. 164–171.
12. Bernhardt M. L., Kim A. M., O'Halloran T. V., Woodruff T. K. Zinc requirement during meiosis I–meiosis II transition in mouse oocytes is independent of the MOS-MAPK pathway // Biol. Reprod. – 2011. – 84 (3). – P. 526–536.
13. Cetin I., Berti C., Calabrese S. Role of micronutrients in the periconceptional period // Human Reproduction Update. – 2010. – 16(1). – P. 80–95. doi: 10.1093/humupd/dmp025

References:

1. Ahiy V.M. Chelate and mineral compounds in feeding of young cattle // Naukovo-tekhnichnyy byuletень. – 2011. – Vol. 12, №1-2. – P. 107–111.
2. Antoniuk H. L., Vazhnenko O. V., Bovt V. D., Stefanyshyn O. M., Panas N. E. Biological role in humans and animals // The Animal Biology. – 2011. – Vol. 13, № 1-2. – P. 17–31.
3. Veterinary Clinical Biochemistry: Monograph / Edited by V.I. Levchenko. – Bila Tserkva, 2002. – 400 p.
4. Kebets N. M. Synthesis of mixed ligand complexes of metals with vitamins and amino acids and studying of their biological properties in animals: Autoref. Thesis of Doctor in Biological Sciences. / Kebets N. M. — M., 2006. – 35 p.
5. Marushko Yu. V., Halynevskaya O.V. Znachennya porushen vmistu marhantsyu u klinichniy praktytsi // Dytyachy likar. – 2013. – 4 (25). – P. 35–39.
6. Primova L.O. Metabolizm vitaminiv i mineralnykh rechovyh: navchalnyy yposibnyk / L.O. Primova, I.Yu. Vysotskyy – Sumy: Sums'kyi derzhavnyy universytet, 2014. – 256 p.
7. Skalnyy A.V., Rudakov Y.A. Bioelementy v medytseye. – M.: Izdatelskiy dom «ONIKS 21 vek»: Mir, 2004. – 272 p.
8. Skalnyy A.V. Mikroelementozy cheloveka (dyahnostyka y lechenye). – M.: Izd-vo KMK, – 2001. – 96 p.
9. Trachtenberg I.M., Chekman I.S., Linnik V.O., Kaplunenko V.G., Gulich M.P., Biletska E.M.,

- Shatorna V.F., Onul N.M. Interaction of microelements: biological, medical, and social aspects // Herald NAS of Ukraine. – 2013. – № 6. – P. 11–20.
10. Tronko M.D., Polumbryk M.O., Kovbasa V.M., Kravchenko V.I., Balion Y.H. The biological role of zinc on human body and necessity of sufficient level of its intake // Herald NAS of Ukraine. – 2013. – № 6. – P. 21–31.
11. Sheremeta V., Gruntkovsky M., Kaplunenko V. Blood biochemical parameters of female cattle in the use of biological active agents // The Animal Biology. – 2015. – Vol. 17, № 2. – P. 164–171.
12. Bernhardt M. L., Kim A. M., O'Halloran T. V., Woodruff T. K. Zinc requirement during meiosis I–meiosis II transition in mouse oocytes is independent of the MOS-MAPK pathway // Biol. Reprod. – 2011. – 84 (3). – P. 526–536.
13. Cetin I., Berti C., Calabrese S. Role of micronutrients in the periconceptual period // Human Reproduction Update. – 2010. – 16(1). – P. 80–95. doi: 10.1093/humupd/dmp025

METABOLISM OF THE RABBITS FEMALES FED ON THE DIETS SUPPLEMENTED WITH ORGANIC MICROELEMENTS IN LIPOSOMAL FORM UNDER CONDITIONS OF REPRODUCTIVE STIMULATION

O. V. Shtapenko, I. I. Gevkan, Yu. I. Slyvchyk, V. Y. Syrvatka

Pregnancy is associated with increased nutritional needs due to the physiologic changes of the female and the metabolic demands of the embryo/fetus. But the mineral status of the animal also has effects on every phase of reproductive cycle. Trace elements such as zinc, selenium, copper, manganese and chromium are essential for the function of various enzymes and other proteins and are needed for many physiological functions, including reproduction. Research the use of organic trace minerals in the many physiological functions, including reproduction is increasing. The use of chelating compounds with high biological activity will increase the fertility of rabbits by stimulation of metabolism and functional activity of the reproductive system. The objective of this study was to evaluate the effect of supplementation with organic zinc, manganese and chromium in liposomal form to the basal diet on the 14th day to insemination on the performance reproductive function and biochemical values of female rabbits during the early stage of pregnancy. The study was conducted on female rabbits divided into two groups: the control group and experimental group. The control group was fed the basal diet while experimental group was supplemented with Zn glutamate, Mn glutamate, Cr methionine in liposomal form per day for 2 weeks before insemination. All groups of animals were fertilized after artificial insemination with appropriate hormonal treatment. Blood and reproductive tissue samples were done on 14 day of gestation. Organic microelements in liposomal forms did not influence on some biochemical parameters. There were no significant changes in activity of some enzymes (AST, ALT, ALP) between the control and experimental group. However, the concentration of GGT showed significantly higher values in experimental group ($p < 0.05$). LDH activity in experimental group was significantly increased ($p < 0.01$), as compared with the control group. The different reproductive performance parameters like corpora lutea, number of implantation and fetuses, resorptions sites, fertility rates were detected in the group supplemented with organic trace elements in liposomal form for 2 weeks before insemination and in control. The pre- and post-implantation losses decreased in liposomal treated group too. The result of our studies indicate that supplementation of organic microelements in liposomal form to the basal diet on 14th day to insemination provide decrease of reproductive ability – growth and development of embryos and their implantation of female rabbits to improve the biochemical values during early state of gestation.

Key words: rabbit, organic microelements, embryogenesis, liposomal preparations, pregnancy, biochemical values.

Отримано редколегією 29.05.2017