

АНОТАЦІЯ

Сябро А.С. Вплив прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу на формування відтворної здатності свиней та способи корекції. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 204 «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва». Полтавський державний аграрний університет, Полтава, 2023.

Виробництво продукції свинарства на промисловій основі передбачає створення ефективних засобів підвищення відтворної здатності свиней, яка істотно знижується під впливом технологічних стресів та супроводжується глибокими метаболічними перетвореннями, де найбільш чутливим до змін є прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз в їх організмі. Розкриття особливостей і закономірностей формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у свиней та розроблення способів його корекції можуть бути основою для створення методів спрямованих на регуляцію росту та розвитку тварин, а тому є актуальними як із теоретичної, так і практичної точок зору.

Дисертаційна робота присвячена теоретичному узагальненню і експериментальному обґрунтуванню впливу корекції мінерального живлення на формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, біохімічного та мінерального складу в крові та спермі кнурів-плідників, а також взаємозв'язку цих показників з функціональною активністю сперматозоїдів. Вивчено особливості протікання інтенсивності пероксидації у крові свинок та свиноматок залежно від фізіологічного стану за умов додаткового споживання Міді у формі цитрату Міді нанотехнологічного походження окремо та в поєднанні з гомогенатом трутневих личинок.

Експерименти з дисертаційної роботи були проведені упродовж 2019–2023 рр. в умовах ПрАТ «Племсервіс» та лабораторії годівлі, фізіології та здоров'я тварин Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН, на кафедрі технології виробництва продукції тваринництва Полтавського державного аграрного університету. Для корекції мінерального живлення свиней за Міддю

використовували цитрат Міді нанотехнологічного походження, виготовленого в умовах ТОВ «Наноматеріали і нанотехнології».

Метою досліджень було з'ясувати особливості формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у свиней та розробити новітні способи підвищення їх відтворної здатності на тлі застосування біологічно активних речовин різної природи.

Для досягнення мети було поставлено наступні завдання:

- дослідити морфо-фізіологічні характеристики сперматозоїдів та гомеостазу показників обміну речовин крові і сперми кнурів-плідників та їх взаємозв'язок з відтворною здатністю після згодовування Міді у формі цитрату Міді окремо та в поєднанні з гомогенатом трутневих личинок;

- встановити особливості впливу на фізіологічний стан та прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз в крові свинок в період статевого дозрівання та їх взаємозв'язок з відтворною здатністю за згодовування Міді у формі цитрату Міді;

- дослідити фізіологічний стан та прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз в крові свиноматок у взаємозв'язку з їх відтворною здатністю за згодовування Міді у формі цитрату Міді окремо та в поєднанні з гомогенатом трутневих личинок;

- проаналізувати ступінь взаємозв'язку між рівнем констант гомеостазу у свиней з показниками їх відтворної здатності;

- науково обґрунтувати ефективність використання Міді у формі цитрату Міді окремо та в комплексі з гомогенатом трутневих личинок у годівлі свиней для стимуляції їх продуктивності.

Об'єктом дослідження був стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в організмі свиней різних статеві-вікових груп за впливу фізіологічного стану за різних способів корекції.

Для виконання поставлених завдань було проведено науково-господарські досліді в чотири етапи. В першому та другому етапі досліджень вивчались зміни біохімічного складу крові та стану прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в цій тканині кнурів-плідників та їх зв'язок з фізіолого-біохімічними

показниками якості еякулятів за умов згодовування різних доз Міді у формі цитрату Міді окремо та в поєднанні з гомогенатом трутневих личинок.

В третьому етапі визначали зміни інтенсивності протікання пероксидації у крові свинок за умов згодовування різних доз Міді у формі цитрату Міді в період статевого дозрівання та їх взаємозв'язок з подальшою відтворною здатністю.

В четвертому етапі аналізували зміни стану прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в крові свиноматок за згодовування комплексної кормової добавки в період поросності та його взаємозв'язок з відтворною здатністю цих тварин.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що вперше отримано наукові дані щодо впливу згодовування Міді у формі цитрату Міді як окремо так і в поєднанні з гомогенатом трутневих личинок на стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу і його взаємозв'язок з якістю спермопродукції, зокрема зі структурою і морфометричними параметрами сперматозоїдів, що значно розширює теоретичні знання щодо дії есенціальних мікроелементів на формування біологічної повноцінності гамет. Поглиблено знання щодо особливостей впливу прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу на життєздатність сперматозоїдів при зберіганні спермодоз з додаванням Міді у формі цитрату Міді. Отримано нові наукові дані про особливості формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у крові пубертатних свинок та порослих свиноматок за корекції мінерального живлення та його взаємозв'язок з їх подальшою репродуктивною здатністю.

Розкрито особливості формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у крові та спермі, а також їх біохімічного складу за умов додаткового згодовування кнурам-плідникам Міді у формі цитрату Міді в дозі 10 % і 20 % вище за норму. Встановлено, що введення до основного раціону досліджуваного мікроелементу у кількості 10 % супроводжувалось сповільненням процесів пероксидного окиснення ліпідів з паралельним посиленням стану системи антиоксидантного захисту у крові кнурів-плідників. При цьому, згодовування Міді у формі цитрату Міді на 20 % більше норми прискорювало перебіг пероксидації, про що свідчить вищий рівень загального білірубину ($p < 0,05$), дієнових кон'югатів ($p < 0,05$) і ТБК-активних сполук, а також прискорене

використання відновленого глутатіону і аскорбінової кислоти. Виявлені зміни стану гомеостазу особливо спостерігалися після 45-ї доби вживання мінеральної добавки, що свідчить про її накопичувальний ефект.

Досліджено стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі кнурів-плідників за корекції мінерального живлення і його взаємозв'язок з функціональною активністю сперматозоїдів та їх морфометричними параметрами. Доведено, що введення цитрату Міді до комбікорму змінювало інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у спермі кнурів-плідників, а величина змін залежить від кількості досліджуваного мікроелементу. Згодовування Міді у формі цитрату Міді в кількості 10 % вище за норму сприяло зменшенню вмісту дієнових кон'югатів, що супроводжувалося підвищенням активності супероксиддисмутази ($p < 0,05$) та збереженням вмісту аскорбінової кислоти. Оптимальний стан системи антиоксидантного захисту у спермі забезпечувало підвищення рухливості ($p < 0,01$) та виживаності ($p < 0,001$) сперматозоїдів, а також поліпшувало їх запліднюючу здатність, про що свідчить високий відсоток запліднених свиноматок. Згодовування Міді у формі цитрату Міді на 20 % більше норми призводило до прискорення процесів пероксидації: збільшення концентрації дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук ($p < 0,05$), холестерину ($p < 0,001$) і дегідроаскорбінової кислоти ($p < 0,001$). Встановлені зміни стану прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу супроводжувалися зниженням виживаності сперматозоїдів та збільшенням кількості їх аномальних форм, що знижує запліднюючу здатність гамет.

З'ясовано особливості впливу згодовування екологічних кормових добавок на метаболічні процеси в організмі кнурів-плідників. На основі аналізу біохімічних показників крові встановлено, що згодовування Міді у формі цитрату Міді окремо або в поєднанні з гомогенатом трутневих личинок супроводжувалося змінами білкового обміну, про що свідчить збільшення вмісту загального білку, головним чином глобулінів, з паралельним зменшенням кількості сечовини та креатиніну ($p < 0,05$) на 45-ту добу вживання. Додавання Міді у формі цитрату Міді на 5 % понад норму до раціону кнурів-плідників сприяло зниженню вмісту дієнових кон'югатів, холестерину, а також активності супероксиддисмутази і каталази, що вказує на сповільнення інтенсивності

пероксидного окиснення ліпідів. При цьому, згодовування комплексної кормової добавки (Мідь у формі цитрату Міді із гомогенатом трутневих личинок) призводило до інтенсифікації пероксидації у крові: збільшення вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук, загального білірубіну з одночасним зниженням рівня ензимних антиоксидантів. Встановлені закономірності змін прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу за додаткового вживання кормових добавок відмічались й у спермі.

Доведено, що корекція живлення кнурів-плідників впливала на формування кількісних та якісних показників якості еякулятів та морфометричних параметрів сперматозоїдів. Згодовування Міді у формі цитрату Міді у кількості 5 % більше норми покращувало біологічну повноцінність спермопродукції на 30-ту добу згодовування мінеральної добавки - підвищує масу еякуляту ($p < 0,001$) та загальну кількість сперматозоїдів ($p < 0,05$). Подібний ефект після припинення вживання мінеральної добавки тривав щонайменше місяць. Комплексне додавання цитрату Міді в поєднанні з гомогенатом трутневих личинок до раціону кнурів-плідників протягом 45-ти діб сприяло збільшенню маси еякуляту ($p < 0,001$), загальної кількості сперматозоїдів ($p < 0,01$) та їх живих форм ($p < 0,001$). Водночас відмічалися зміни морфометричних параметрів сперматозоїдів: збільшення довжини головки ($p < 0,001$) і тіла ($p < 0,001$) з паралельним зниженням частоти аномальних форм цих гамет.

Встановлено, що у крові ремонтних свинок у період становлення статевих циклів, у віці 6–9 місяців, відбувалася лабільність прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу. Згодовування різних доз Міді у формі цитрату Міді (10 % і 20 % вище за норму), супроводжувалось особливостями протікання інтенсивності пероксидації у крові, що головним чином визначало формування статевих циклів та подальші репродуктивні показники. Тварини, які вживали Мідь у формі цитрату Міді на 10 % більше норми, характеризувалися більш раннім проявом статевих циклів ($p < 0,01$) та найвищим відсотком заплідненості (86,7 %), а після опоросу більшою кількістю поросят при відлученні ($p < 0,01$) та масою гнізда у 28-ми денному віці ($p < 0,01$) відносно інтактних тварин.

В другу половину поросності встановлено суттєве метаболічне навантаження на організм свиноматок, що зумовлює зміну стану прооксидантно-

антиоксидантного гомеостазу у напрямі прискорення пероксидації. При згодовуванні Міді у формі цитрату Міді у кількості 5 % вище за норму окремо та в комплексі з гомогенатом трутневих личинок у свиноматок в день опоросу відмічалось сповільнення інтенсивності пероксидації у крові: зменшення вмісту дієнових кон'югатів і ТБК-активних сполук та одночасне істотне використання низькомолекулярних антиоксидантів - відновленого глутатіону ($p<0,05$) і аскорбінової кислоти ($p<0,05$). Найвища кількість живих поросят при народженні, які в подальшому характеризувались вищою збереженістю, встановлена у свиноматок, котрі вживали комплексну кормову добавку.

Ключові слова: прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, кнури-плідники, свинки, свиноматки, відтворна здатність, кров, якість спермопродукції, цитрат Міді, гомогенат трутневих личинок.

ABSTRACT

Siabro A. S. Influence of Prooxidant-Antioxidant Homeostasis on the Formation of Reproductive Capacity of Pigs and Ways of Correction. – Qualifying scientific work as a manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in speciality 204 Technology of Production and Processing of Livestock Products. Poltava State Agrarian University, Poltava, 2023.

Pig breeding production on an industrial basis involves the creation of effective means of increasing the reproductive capacity of pigs, which is significantly reduced under the influence of technological stresses and is accompanied by deep metabolic transformations, in this case, the prooxidant-antioxidant homeostasis in their body is the most sensitive to changes. Discovering the peculiarities and regularities of the formation of prooxidant-antioxidant homeostasis in pigs and developing methods of its correction can be the basis for creating methods aimed at regulating the growth and development of animals, and therefore are of theoretical and practical importance.

The thesis is devoted to the theoretical generalization and experimental substantiation of the influence of mineral nutrition correction on the formation of

prooxidant-antioxidant homeostasis, biochemical and mineral composition in blood and semen of breeding boars, as well as the correlation of these indicators with the functional activity of spermatozoa. The peculiarities of peroxidation intensity in the blood of gilts and sows, depending on the physiological state, under the additional consumption of copper in the form of copper citrate of nanotechnological origin, separately and in combination with the homogenate of drone larvae, are studied.

Experiments on the thesis were conducted during 2019–2023 in Plemservis PJSC and the Laboratory of Feeding, Physiology and Animal Health of the Institute of Pig Breeding and Agro-Industrial Production of the National Academy of Agrarian Sciences, at the Department of Technology of Livestock Production of Poltava State Agrarian University. Copper citrate of nanotechnological origin, manufactured in Nanomaterials and Nanotechnologies Ltd. was used to correct the mineral nutrition of pigs by means of copper.

The studies aimed to find out the peculiarities of the formation of prooxidant-antioxidant homeostasis in pigs and to develop the latest ways to increase their reproduction by applying biologically active substances of different nature.

The following tasks were set to achieve this aim:

- to study the morpho-physiological characteristics of spermatozoa and the homeostasis of metabolic indicators in the blood and semen of breeding boars and their correlation with reproductive capacity after copper feeding in the form of copper citrate separately and in combination with the homogenate of drone larvae;
- to identify the peculiarities of influence on physiological state and prooxidant-antioxidant homeostasis in the blood of gilts during puberty and their interrelation with reproductive capacity during copper feeding in the form of copper citrate;
- to investigate the physiological state and prooxidant-antioxidant homeostasis in the blood of sows in correlation with their reproductive capacity during copper feeding in the form of copper citrate separately and in combination with the homogenate of drone larvae;
- to analyze the degree of correlation between the level of homeostasis constants in pigs and the indicators of their reproductive capacity;

- to scientifically substantiate the effectiveness of using copper in the form of copper citrate separately and in complex with the homogenate of drone larvae when feeding pigs to stimulate their productivity.

The object of the research was the state of prooxidant-antioxidant homeostasis in the body of pigs of different sex and age groups under the influence of the physiological state with various ways of correction.

To fulfill the tasks, scientific and economic experiments were carried out in four stages. At the first and second stages of research, the changes in the biochemical composition of blood and the state of prooxidant-antioxidant homeostasis in this tissue of breeding boars and their correlation with physiological and biochemical indicators of ejaculate quality when feeding with different doses of copper in the form of copper citrate separately and in combination with the homogenate of drone larvae were studied.

At the third stage, changes in the intensity of peroxidation in the blood of gilts when feeding with different doses of copper in the form of copper citrate during puberty and their correlation with subsequent reproductive capacity were determined.

At the fourth stage, changes in the state of prooxidant-antioxidant homeostasis in the blood of sows when feeding with a complex feed additive during the pregnancy period and the correlation of this state with the reproductive capacity of these animals were analyzed.

The scientific novelty of the obtained results consists in the fact that for the first time, scientific data are obtained regarding the influence of copper feeding in the form of copper citrate both separately and in combination with the homogenate of drone larvae on the state of prooxidant-antioxidant homeostasis and its correlation with the quality of semen production, in particular with the structure and morphometric parameters of spermatozoa, which significantly extends theoretical knowledge about the influence of essential microelements on the formation of biological integrity of gametes. Knowledge of the influence of prooxidant-antioxidant homeostasis on spermatozoon viability during semen dose storage with the addition of copper in the form of copper citrate is increased. New scientific data are obtained concerning the specifics of the formation of prooxidant-antioxidant homeostasis in the blood of

pubertal pigs and pregnant sows under the correction of mineral nutrition and its correlation with their subsequent reproductive capacity.

The characteristics of the formation of prooxidant-antioxidant homeostasis in blood and semen, as well as their biochemical composition, are revealed in the case of supplementary feeding breeding boars with copper in the form of copper citrate at a dose of 10% and 20% above the norm. It is found out that the introduction of the studied microelement in the main diet in the amount of 10% is accompanied by a slowdown of lipid peroxidation processes with a parallel strengthening of the antioxidant defence system in the blood of breeding boars. Meanwhile, feeding copper in the form of copper citrate 20 % more than normal accelerates the course of peroxidation as evidenced by higher levels of total bilirubin ($p<0.05$), diene conjugates ($p<0.05$), TBA-active compounds as well as the increased use of reduced glutathione and ascorbic acid. The revealed changes in the state of homeostasis are especially observed after the 45th day of using the mineral supplement, which indicates its accumulative effect.

The state of prooxidant-antioxidant homeostasis in the semen of breeding boars under the correction of mineral nutrition and its correlation with the functional activity of spermatozoa and their morphometric parameters are examined. It is proved that the introduction of copper citrate into mixed fodder changes the intensity of lipid peroxidation in semen, and the magnitude of changes depends on the quantity of the microelement under study. Copper feeding in the form of copper citrate 10% above the norm promotes a decrease in the content of diene conjugates, which is accompanied by an increase in superoxide dismutase activity ($p<0.05$) and preservation of ascorbic acid content. The optimal state of the antioxidant defence system in semen provides increased mobility ($p<0.01$) and survival ($p<0.001$) of spermatozoa, and improves their fertilizing capacity, as evidenced by the high percentage of sows fertilized. Copper feeding in the form of copper citrate 20% more than normal leads to accelerated peroxidation processes: increased concentration of diene conjugates, TBA-active compounds ($p<0.05$), cholesterol ($p<0.001$) and dehydroascorbic acid ($p<0.001$). The identified changes in the state of prooxidant-antioxidant homeostasis are accompanied by a decrease in the survival rate of spermatozoa and an increase in the number of their abnormal forms, which reduces the fertilizing capacity of gametes.

The peculiarities of the influence of ecological feed additives feeding on the metabolic indicators in the body of breeding boars are found out. Based on the analysis of biochemical blood parameters, it was established that copper feeding in the form of copper citrate alone or in combination with the homogenate of drone larvae was accompanied by changes in protein metabolism, as evidenced by an increase in the content of total protein, mainly globulins, with a parallel decrease in the amount of urea and creatinine ($p < 0.05$) on the 45th day of use. The addition of copper in the form of copper citrate 5% above the norm in the diet of breeding boars contributed to a decrease in the content of diene conjugates, cholesterol, as well as the activity of superoxide dismutase and catalase, indicating a slowdown in the intensity of lipid peroxidation. At the same time, feeding with a complex feed additive (copper in the form of copper citrate with the homogenate of drone larvae) led to the intensification of peroxidation in the blood: an increase in the content of diene conjugates, TBA-active compounds, total bilirubin with a simultaneous decrease in the level of enzymatic antioxidants. The established regularities of changes in prooxidant-antioxidant homeostasis during the additional use of feed additives were also observed in semen.

It is proved that the correction of the nutrition of breeding boars influences the formation of quantitative and qualitative indicators of ejaculate quality and morphometric parameters of spermatozoa. Copper feeding in the form of copper citrate 5% more than the norm improves the biological adequacy of sperm production on the 30th day of mineral supplement feeding – it increases the mass of ejaculate ($p < 0.001$) and the total number of spermatozoa ($p < 0.05$). Such an effect lasts at least a month after stopping the use of the mineral supplement. The complex addition of copper citrate in combination with the homogenate of drone larvae to the diet of breeding boars during 45 days helps to increase the weight of the ejaculate ($p < 0.001$), the total number of spermatozoa ($p < 0.01$) and their live forms ($p < 0.001$). At the same time, changes in the morphometric parameters of spermatozoa were noted: an increase in the length of the head ($p < 0.001$) and body ($p < 0.001$) with a parallel decrease in the frequency of abnormal spermatozoa.

Lability of prooxidant-antioxidant homeostasis is found in the blood of rearing gilts during the formation of sexual cycles at the age of 6-9 months. Feeding with

different doses of copper in the form of copper citrate (10% and 20% above the norm) was accompanied by peculiarities of peroxidation intensity in the blood, which mainly determined the formation of sexual cycles and subsequent reproductive indicators. Animals that consumed copper in the form of copper citrate 10% more than the norm were characterized by the earlier manifestation of sexual cycles ($p<0.01$) and the highest percentage of fertilization (86.7%), and after farrowing, a higher number of piglets at weaning ($p<0.01$) and litter weight at the age of 28 days ($p<0.01$) relative to intact animals.

In the second half of pregnancy, a significant metabolic load on the organism of sows is found out, which leads to changes in the state of prooxidant-antioxidant homeostasis in the direction of accelerated peroxidation. During copper feeding in the form of copper citrate 5 % above the norm separately and in combination with drone larvae homogenate, a slowdown in the intensity of peroxidation in the blood was observed in sows on the day of farrowing: a decrease in the content of diene conjugates and TBA-active compounds and simultaneous significant use of low molecular weight antioxidants – reduced glutathione ($p<0.05$) and ascorbic acid ($p<0.05$). The highest number of live piglets at birth, which were subsequently characterized by a higher survival rate, was found in sows that consumed the complex feed additive.

Keywords: prooxidant-antioxidant homeostasis, breeding boars, gilts, sows, reproductive capacity, blood, quality of semen production, copper citrate, homogenate of drone larvae.