

На правах рукописи



Иванова Людмила Викторовна

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА
ОРГАНОВ ПОЛОВОГО АППАРАТА САМОК НОРОК ПРИ
ПРИМЕНЕНИИ СЕЛЕНСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



003450362

Ставрополь – 2008

Работа выполнена на кафедре анатомии и патанатомии
ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Лапина Татьяна Ивановна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Карташов Сергей Николаевич

доктор биологических наук, профессор
Великанов Валериан Иванович

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Саратовский государственный
аграрный университет им. Н.И. Вавилова»

Защита диссертации состоится «14» ноября 2008 г. в 10 часов
на заседании диссертационного совета Д.220.062.02 при ФГОУ ВПО
«Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу:
355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО
«Ставропольский государственный аграрный университет».

Автореферат размещен на официальном сайте ФГОУ ВПО
«Ставропольский государственный аграрный университет»:
<http://www.stgau.ru> «13» октября 2008 г.

Автореферат разослан «13» октября 2008 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Квочко А.Н.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Пушное звероводство в нашей стране является важной и перспективной отраслью животноводства.

Звероводческой практикой установлено, что организм норок обладает значительным репродуктивным потенциалом в отношении повышения многоплодия. Однако в силу эмбриональной смертности, эта возможность, зачастую, не реализуется. Кроме того, пониженная жизнеспособность уже родившихся щенков препятствует их полному сохранению до отсадки (О.В. Трапезов, Л.И. Трапезова, 2007).

Для поддержания нормальной жизнедеятельности организма пушные звери, особенно растущий молодняк, беременные и лактирующие самки, должны получать достаточное количество минеральных веществ (В.А. Берестов, 2002; Е.Д. Ильина, А.Д. Соболев и др., 2004). Недостаток микроэлементов, в том числе селена, отрицательно сказывается на состоянии обмена веществ, воспроизводительных функций самок, жизнеспособности и качестве приплода (Н.И. Лебедев, 1990).

Селен участвует во многих окислительно-восстановительных процессах, обладает антиоксидантным и антиоксическим действием. В этих процессах он взаимодействует с витамином Е. Вместе они влияют на обмен белков, жиров, углеводов. Селеном богаты иммунные клетки, он входит в состав многих белков и ферментов организма. Биологическая роль селена определяется включением в его состав антиокислительного фермента глутатионпероксидазы, осуществляющего защиту мембранных структур, митохондрий от перекисного окисления липидов (В.И. Георгиевский, Б.Н. Анненков, В.Т. Самохин, 1979; А.П. Кудрявцев, 1979; А. Ерохин и др., 1997; В.И.Беляев, Ю.Н. Алехин, С.В.Куркин, 2002; А.И. Бельденков, Н.В. Боголюбова, 2002).

В практике животноводства для повышения продуктивности и профилактики целого ряда заболеваний животных широко применяются неорганические соединения селена в виде селенита и селената натрия. Они недостаточно эффективны ввиду малой биодоступности (20-30%) и высокой токсичности, быстро действуют, но не кумулируются в организме (В.И. Беляев, Ю.Н. Алехин, С.В.Куркин, 2002; В.И. Беляев, Ю.П. Балым, 2007).

Известно, что биодоступность многих элементов выше, если они находятся в составе органических соединений (Б.Д. Кальницкий, 1985).

В итоге многолетних исследований российскими учеными Б.И. Древко и А.Ф. Блинохатовым (1970-2000 гг.) (цит. по Т.Н. Родионовой, 2004) удалось синтезировать селенсодержащие органические вещества (диацетофенилселенид и селенопиран), которые существенно отличаются от неорганических препаратов селена, свободны от недостатков. Они обладают значительно меньшей токсичностью, высокой липофильностью, что обеспечивает возможность их пролонгированного действия (Т.Н. Родионова, 2004; К.А. Кулешов, 2006).

Цели и задачи. Основной целью настоящей работы явилась сравнительная морфофункциональная оценка органов полового аппарата самок норок при применении селенсодержащих препаратов неорганической (Е-селен) и органической (Селенолин) форм.

Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Оценить показатели репродуктивной способности самок норок и качественные показатели их потомства с недостатком селена и при применении селенсодержащих препаратов.
2. Изучить гематологические и биохимические показатели крови самок норок с недостатком селена и после применения селенсодержащих препаратов.
3. Изучить гистоструктуру и определить морфометрические показатели органов полового аппарата (яичников, яйцеводов, рогов и тела матки) норок с недостатком селена и после воздействия селенсодержащих препаратов.
4. Изучить влияние препаратов селена на генеративную функцию яичников норок.

Научная новизна работы. Впервые изучено морфофункциональное состояние органов полового аппарата самок норок при недостатке селена. Изучено влияние селеноорганического препарата Селенолин на воспроизводительную способность самок норок и их потомство.

Дана оценка гематологических и биохимических показателей крови норок после воздействия селенсодержащих препаратов Е-селена и Селенолина.

Определено влияние препаратов Е-селен и Селенолин на структурно-функциональное состояние и морфометрические показатели органов полового аппарата пушных зверей.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные данные проведенных исследований в значительной степени дополняют и расширяют сведения о влиянии селенсодержащих препаратов на организм норок, на структурно-функциональное состояние органов полового аппарата. Установленные закономерности дают теоретическую базу ветеринарным специалистам для использования выбранных препаратов-эффекторов с целью повышения репродуктивного потенциала самок норок, их плодовитости, сохранности и улучшения качественных показателей их потомства, открывают перспективу по применению препаратов Е-селен и Селенолин в области пушного звероводства.

По результатам исследований изданы методические рекомендации «Эффективность применения селенсодержащих препаратов в звероводстве» (протокол №1 от 11.02.2008 г. научно-технического совета МСХ Ставропольского края).

Данные, полученные в ходе проведенных исследований, могут быть использованы в учебном процессе на ветеринарных, зооинженерных и

биологических факультетах, а также курсах повышения квалификации, при написании учебников, монографий.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Активизация генеративной функции яичников норок при применении селеносодержащих препаратов.
2. Нормализация структуры органов воспроизводства, как следствие улучшения обменных процессов при применении селеносодержащих препаратов.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на научно-практических конференциях ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет» (2005-2008 гг.), на научно-практической конференции «Актуальные вопросы зоотехнической и ветеринарной науки и практики в АПК», г. Ставрополь (2006г.), на Международном научно-практическом конгрессе «Актуальные проблемы ветеринарной медицины» в рамках выставки «Ветеринария. Зоотехния. Комбикорма», г. Санкт-Петербург (2007г.) (почетный диплом ОАО ЛЕНЭКСПО), на 16-ой Всероссийской научно-методической конференции по патологической анатомии животных, г. Ставрополь (2007г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 1 статья в журнале из перечня, рецензируемого ВАК.

Внедрение. Результаты исследований внедрены в племенном звероводческом хозяйстве ЗАО «Лесные ключи» Ставропольского края.

Полученные данные приняты к внедрению в учебный и научный процесс и используются на лекционных и лабораторно-практических занятиях по курсам патанатомии, анатомии и гистологии в ФГОУ ВПО «СтГАУ», ФГОУ ВПО «Нижегородская ГСХА», ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская ГАВМ», Мордовском государственном университете, ФГОУ ВПО «Ивановская ГСХА им. Академика Д.К. Беляева», ФГОУ ВПО «Башкирский ГАУ», ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова».

Объем и структура диссертации. Диссертация включает следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение результатов, выводы, практические предложения и список литературы. Список использованной литературы включает 140 источников, в том числе 15 иностранных авторов. Работа изложена на 128 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 58 микрофотографиями, 17 таблицами, 12 диаграммами.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований.

Работа выполнена в период с 2004 по 2008 годы на кафедре анатомии и патанатомии ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», в ГНУ СНИИЖК, звероводческом племхозо хозяйстве ЗАО «Лесные ключи» Шпаковского района Ставропольского края. Исследования

проводили на американской норке (*Mustela vison*) стандартного темно-коричневого окраса в количестве 126 животных.

Опыт проводили на самках 8–9 месячного возраста, принадлежащих ЗАО «Лесные Ключи» Шпаковского района, Ставропольского края. Для содержания зверей применяется клеточная система по общепринятой в зверохозяйстве технологии. В хозяйстве рыбно-мясной тип кормления. В состав корма входят субпродукты второй категории, различные виды рыбы и их отходы, сухие животные корма, зерно, овощи, витамины.

Непосредственно перед опытом определяли количественное содержание селена в сыворотке крови, корме и в воде. Для исследований кровь брали в утренние часы до кормления. Содержание селена в сыворотке крови, воде и корме (мясо-рыбном фарше) определяли при помощи атомно-абсорбционного спектрофотометра.

В результате выявлено недостаточное содержание селена в крови, – 0,04 - 0,055 мкг/мл, при норме 0,08 – 0,12 мкг/мл у животных (Н.И. Лебедев, 1990; Т.Н. Родионова, 2004). В образцах корма и воды обнаружили следы селена.

Научно-практический эксперимент проводили в 2 этапа. На первом этапе с целью изучения влияния препаратов селена на репродуктивные функции самок за 1 мес. до гона сформировали 3 группы половозрелых самок норок (по 20 голов в каждой). Первая группа служила контролем, норкам 2-ой группы применяли препарат Е-селен в дозе 0,04 мл/кг живой массы. Самкам 3-ей группы вводили препарат Селенолин в дозе 0,01 мл/кг живой массы. Ввиду применения малых доз, Е-селен разводили водой для инъекций, Селенолин – стерильным маслом. Препараты вводили однократно внутримышечно.

После щенения животных оценивали процент оплодотворенных, бесплодных самок, рассчитывали среднее количество щенков, полученных на 1 самку.

У 40-дневных щенков, полученных от самок норок контрольной и опытных групп, перед отсадкой были произведены замеры массы и длины тела. Взвешивание производили при помощи электронных весов марки «Vitek» (с точностью до 1 грамма). Выявляли отход щенков, их сохранность к отсадке. Для 2-го этапа опыта отобрали 66 щенков одного возраста, из которых было сформировано 3 группы животных по 22 гол. в каждой. В первой группе находились щенки от контрольной группы самок, во 2-й – щенки от самок, инъецированных Е-селеном, в 3-ей – от самок, инъецированных Селенолином. У животных всех 3-х групп исследовали кровь на содержание селена, после чего, за месяц до проводимого в зверохозяйстве массового убоя, норкам 2-го этапа эксперимента вводили препараты Е-селен и Селенолин в выше указанных дозах. Перед убоем была взята кровь для гематологических и биохимических исследований.

Количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали в счетной камере Горяева по общепринятым методикам. Содержание гемоглобина определяли по методу Сали с помощью гемометра ГС – 3.

При биохимическом исследовании сыворотки крови определяли количество общего белка рефрактометрическим методом. Процентное соотношение белковых фракций исследовали турбидиметрическим (нефелометрическим) методом. Содержание кальция и фосфора с помощью биотестов фирмы Lachema. Витамин Е определяли хроматографическим методом на хроматографе жидкостном микроколоночном 4.

Для гистологических и гистохимических исследований у убитых норок отбирали органы полового аппарата (яичники, яйцепровод, рога и тело матки).

Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине и жидкости Карнуа с последующей заливкой в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм изготавливали по общепринятым методикам, окрашивали гематоксилином и эозином для обзорных исследований, ставили комбинированную ШИК-реакцию с альциановым синим для выявления углеводсодержащих биополимеров, ДНК и РНК выявляли окраской срезов по методу Браше, коллагеновые волокна – по способу Маллори (Р.Лири, 1969; Г.А.Меркулов, 1969), проводили полихромную окраску по Н.А. Акимченкову (Н.А.Акимченков, 1973).

Морфометрические исследования проводили с помощью программы «Видео-Тест-Мастер 4.0». При этом определяли площадь ядра, протоплазмы примордиальных фолликулов и значение ядрено-протоплазмного отношения (ЯПО), а также площадь ядра и протоплазмы, ЯПО эпителиоцитов слизистой оболочки яйцепровода и эпителиоцитов маточных желез рога и тела матки. Концентрацию ДНК и РНК в примордиальных фолликулах, в фолликулярных клетках вторичных фолликулов, в фолликулярных клетках лучистого венца и зернистого слоя третичных фолликулов определяли морфометрически путем измерения оптической плотности (интенсивности окрашивания).

На площади среза яичника подсчитывали количество примордиальных, первичных, вторичных, третичных, атретических фолликулов, атретических и желтых тел.

Полученный цифровой материал обработан методами вариационной статистики на ПЭВМ с пакетом программ MS Office. Достоверность различий сравниваемых показателей оценивали по критерию Крускала-Уолиса и однофакторному дисперсионному анализу. Разницу считали достоверной при $P < 0,05$. Обозначали: * – достоверное различие между 1 и 2 группами, ** – между 1 и 3 группами, *** – между 2 и 3 группами.

2.2. Результаты исследований

Оценка репродуктивной функции самок норок и качественных показателей их потомства

Проанализировав показатели репродуктивной функции самок, необходимо отметить, что у самок норок с применением селенсодержащих препаратов наблюдается повышение процента оплодотворенных, их плодовитости, увеличение среднего количества щенков на 1 самку. Так, среднее количество щенков на 1 самку во 2-й и 3-ей группе на 7,2% и на 17,6%, соответственно, разнится с аналогичным результатом в контроле (разница недостоверна) (рис.1). В опытных группах отмечали 100% оплодотворяемость всех самок. По нашему мнению, такой эффект создается за счет стимуляции репродуктивной системы самок после применения селенсодержащих препаратов, а именно, активизируется генеративная функция яичников.

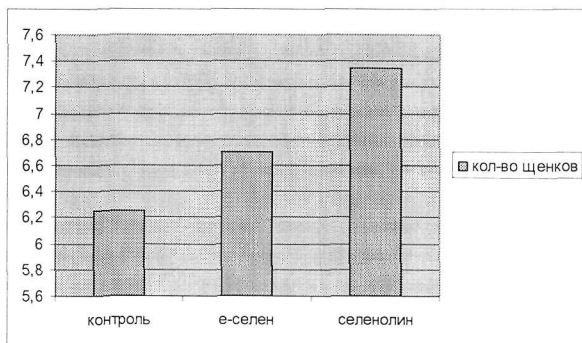


Рис.1. Среднее количество щенков на 1 самку в контрольной и опытных группах.

Анализируя показатели прироста щенков, отметим повышение массы тела у животных 2-й и 3-ей группы на 16,89% и на 23,55%, соответственно, по сравнению с контролем (при $P < 0,05$) (рис.2). Показатель длины тела во 2-й и 3-ей группе на 4,26% (разница недостоверна) и 6,5% (при $P < 0,05$), соответственно, выше аналогичного показателя по сравнению с контролем (рис.2). Полученные данные указывают, что селенорганический препарат обладает более высокой биологической активностью и доступностью, улучшает и активизирует обменные процессы в организме беременных особей и растущего молодняка.

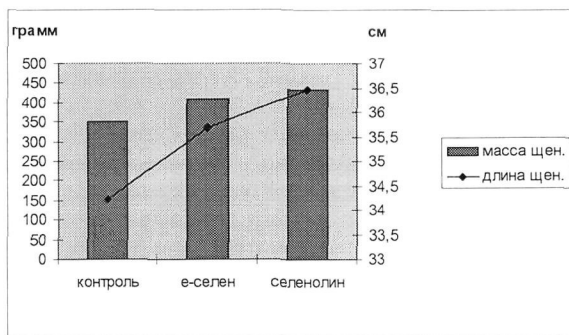


Рис.2. Показатели прироста щенков, полученных от норок контрольной и опытных групп.

Оценка гематологических и биохимических показателей крови самок норок 2-го этапа опыта с недостатком селена и после применения Е-селена и Селенолина.

В результате гематологических исследований выявлено, что уровень гемоглобина у животных в контрольной группе ниже физиологической нормы на 56% ($114,7 \pm 0,9$ г/л). После применения Е-селена и Селенолина, у норок 2-й и 3-ей групп зафиксировали достоверное увеличение содержания гемоглобина на 34,7% ($154,5 \pm 7,4$ г/л) и 37,9% ($158,2 \pm 0,7$ г/л) (при $P < 0,05$), соответственно, по сравнению с первой группой.

В группе зверей с применением Е-селена и Селенолина наблюдали достоверное увеличение содержания эритроцитов на 26,4% ($10,14 \pm 0,2 \times 10^{12}/л$) и 30,9% ($10,5 \pm 0,3 \times 10^{12}/л$) (при $P < 0,05$), соответственно, по сравнению с контрольной группой ($8,016 \pm 0,2 \times 10^{12}/л$).

Проанализировав данные гематологических исследований, необходимо отметить, что у самок норок контрольной группы количество гемоглобина, эритроцитов ниже физиологического уровня. На наш взгляд, это обусловлено недостаточностью в рационе или нарушением усвоения организмом веществ, обеспечивающих нормальное функционирование органов кроветворения (В.А. Берестов, 1971).

У животных после применения Е-селена и Селенолина выявлено увеличение количества гемоглобина и эритроцитов. Селенорганический препарат в большей степени усиливает функцию образования крови в костном мозге (Г. Трифионов, Е. Перунова, 2001).

В результате биохимических исследований выявлено, что концентрация общего белка и белковых фракций активно моделировалась под действием селенсодержащих препаратов. Так, в группе животных,

получавших Е-селен и Селенолин, содержание общего белка достоверно выше на 19,9% ($93,7 \pm 0,4$ г/л) и на 21,66% ($95,04 \pm 0,3$ г/л) соответственно, по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе ($78,11 \pm 0,4$ г/л) (при $P < 0,05$).

Выявлено увеличение концентрации альбуминов в сыворотке крови опытных животных. В группе норок после применения Е-селен, концентрация альбуминов на 6% ($44,01 \pm 0,6$ г/л) превышает аналогичный показатель в контроле ($41,5 \pm 0,4$ г/л) (разница недостоверна). В группе самок после воздействия Селенолина, уровень альбумина на 10,7% ($45,9 \pm 0,6$ г/л) больше идентичного показателя в контроле (при $P < 0,05$) и на 4,29%, чем в группе норок, получавших Е-селен (разница недостоверна).

У самок, получавших Е-селен, зафиксировано достоверное повышение количества α -глобулинов на 25,6% ($12,9 \pm 0,5$ г/л) по сравнению с животными в контрольной группе ($10,27 \pm 0,2$ г/л) (при $P < 0,05$). У норок 3-ей группы содержание α -глобулинов больше на 43,8% ($14,77 \pm 0,3$ г/л), чем в контрольной группе и на 14,5% превышает таковой показатель по сравнению со 2-й группой.

Содержание β -глобулинов в крови у самок 2-й и 3-ей группы на 26,1% ($16,52 \pm 0,3$ г/л) и на 26,5% ($16,57 \pm 0,3$ г/л), соответственно, превышал аналогичный показатель в контрольной группе ($13,1 \pm 0,3$ г/л) (при $P < 0,05$).

Установлено достоверное повышение γ -глобулинов у норок с применением Е-селена ($20,23 \pm 0,4$ г/л), что на 52% выше идентичного показателя в контрольной группе ($13,31 \pm 0,2$ г/л) и на 12,25% ($17,75 \pm 0,4$ г/л) в группе с применением Селенолина (при $P < 0,05$). У норок, получавших Селенолин, содержание γ -глобулинов на 33% больше, чем у норок контрольной группы (при $P < 0,05$).

На основании результатов биохимических исследований отметим, концентрация общего белка и белковых фракций активно моделировалась под действием селенсодержащих препаратов. Выявлено увеличение концентрации альбуминов, нормализовалось содержание α -, β -глобулинов в сыворотке крови опытных животных. Вероятно, это связано со способностью селена накапливаться в сыворотке крови, где он транспортируется альбумином, затем элемент включается в α -, β -глобулины (А. Хенниг, 1976; Т.Н. Родионова, 2004).

Принимая во внимание, что альбумины синтезируются, преимущественно, в печени, их невысокий уровень в сыворотке крови самок контрольной группы является показателем ослабления белково-синтетической способности этого органа (В.А. Берестов, 1971).

Е-селен и Селенолин повышают неспецифическую резистентность организма, о чем свидетельствует увеличение уровня фракции γ -глобулинов, что указывает на некоторую иммунотропную способность исследуемых препаратов.

Механизм действия селеносодержащих препаратов проявляется в активизации основных видов обмена веществ, в том числе белкового, минерального, витаминного.

Поддержание необходимого физиологического уровня селена в организме норок положительно повлияло на фосфорнокальциевый обмен. Содержание кальция в сыворотке крови у норок с применением Е-селена составило $2,8 \pm 0,2$ ммоль/л и $3,4 \pm 0,2$ ммоль/л – в 3-ей группе, что на 13,6% и на 36% превысил таковой результат в контрольной группе ($2,5 \pm 0,1$ ммоль/л) (разница статистически недостоверна). У норок, получавших Селенолин, содержание кальция на 19,7% больше, чем у норок, получавших Е-селен. По нашему мнению, селеносодержащие препараты усиливают всасывание и усвоение организмом кальция и фосфора.

Выявлено увеличение концентрации фосфора у норок во 2-й группе на 13,6% ($1,59 \pm 0,2$ ммоль/л) (разница статистически недостоверна), в 3-ей группе – на 28,6% ($1,8 \pm 0,1$ ммоль/л), соответственно, по сравнению с контрольной группой ($1,4 \pm 0,1$ ммоль/л) (при $P < 0,05$). В группе норок, получавших Селенолин, содержание фосфора на 13,2% больше, чем у норок, получавших Е-селен (разница недостоверна).

При исследовании сыворотки крови норок контрольной группы на содержание витамина Е обнаружены только его следы. В группе норок с применением Е-селена уровень витамина Е в сыворотке крови составил $7,29 \pm 0,3$ мкг/г, что на 55,2% выше такого показателя у животных 3-ей группы ($3,27 \pm 0,3$ мкг/г) (при $P < 0,05$). Возможно, что это связано с антиоксидантным, берегающим действием селена по отношению к витамину Е (Т.Н. Родионова, 2004).

Таким образом, селеносодержащие препараты оказывают комплексное положительное влияние на обмен веществ в организме норок.

Гистологическая и морфофункциональная характеристика органов полового аппарата самок норок с недостаточным содержанием селена.

Изучая гистологическую структуру органов полового аппарата самок (яичников, яйцеводов, рогов и тела матки) норок контрольной группы, отметим, что отличительной особенностью гистологической структуры яичника норок от других животных является то, что основу коркового и мозгового вещества составляют интерстициальные клетки, которые по строению сходны с эпителиальными клетками. Они лежат обычно группами. Их функцию связывают с синтезом эстрогена. Этим восполняется его недостаток в те периоды жизни самки, когда отсутствуют развивающиеся фолликулы, а также в период после овуляции (О.В. Александровская и др., 1987)

В строме коркового вещества яичника норки контрольной группы лежат временные функциональные структуры: примордиальные фолликулы, развивающиеся фолликулы, атретические фолликулы и тела.

Наблюдения Д. В. Клочкова (2001) показали, что в ноябре около 3% молодых самок находятся в состоянии эструса и по этому признаку их можно разделить на особей с ранним и поздним половым созреванием. В контрольной группе в единичных случаях встречались самки с ранним половым созреванием, что доказывает присутствие в их яичниках преовуляторных фолликулов и желтых тел. У остальных контрольных животных в яичниках наблюдается атрезия растущих фолликулов и наличие множества атретических тел, что характеризует стадию проэструса.

У норки нами отмечены 2 типа атрезии растущих фолликулов. В первом случае атрезия фолликулов начинается с гибели фолликулярных клеток и их замещение интерстициальными клетками стромы, после гибнет ооцит. Полученные результаты согласуются с данными таких авторов, как И.Ф. Иванов, П.А. Ковальский (1976), О.В. Александровская, Т.Н. Радостина, Н.А. Козлов (1987). Во втором случае процесс атрезии начинается с гибели ооцита путем развития глубоких необратимых структурных изменений некротического характера. Затем разрушается фолликулярный эпителий, его замещение интерстициальными клетками стромы. Подобное явление описывали в своих трудах В.И. Соколов, Е.И. Чумасов (2004).

При атрезии антральных фолликулов, по нашему мнению, их полость прорастает соединительнотканью клетками, фолликулярные клетки подвергаются дегенеративным изменениям, после происходит гибель ооцита.

При гистологическом исследовании срезов полового аппарата норки контрольной группы, окрашенных по Маллори, в некоторых случаях наблюдается очаговое прорастание коллагеновыми волокнами коркового вещества яичников, а также стенки яйцеводов и всех слоев тела и рогов матки. На наш взгляд, это связано с ослаблением антиоксидантной системы, активизацией свободно-радикального окисления вследствие чего возникает нарушение структуры тканей полового аппарата.

При постановке ШИК-реакции выявили, что в покровном эпителии слизистой оболочки яйцевода норки контрольной группы встречаются железистые клетки, апикальный полюс которых начинает выделять секрет, включающий ШИК-положительные вещества (+++).

Апикальный край эпителиоцитов маточных желез рогов и тела матки норки контрольной группы содержит ШИК-положительные вещества в умеренном количестве (+++). В некоторых маточных железах тела матки просвет начинает заполняться секретом с ШИК-положительным веществом (++++).

Гистологическая и морфофункциональная характеристика органов полового аппарата самок норок при применении селенсодержащих препаратов.

После воздействия селенсодержащих препаратов установили особенности гистологической структуры овариальных желез самок испытуемых групп. В строме коркового вещества яичников норок опытных групп лежат функциональные структуры: примордиальные, первичные, вторичные, атретические фолликулы и атретические тела, а также зрелые фолликулы и желтые тела, которых не обнаруживали в яичниках норок контрольной группы.

Выявлено увеличение количества примордиальных фолликулов (на площади среза яичника) у норок с применением Е-селена на 98% и на 102% - в 3-ей группе по сравнению с таковым показателем в контроле (при $P < 0,05$). Это свидетельствует о том, что селенсодержащие препараты инициируют оогенез, а именно, стадию размножения. Селен хорошо проходит через плаценту и накапливается в тканях плода (В.И. Георгиевский, 1979). Поэтому влияние селена на организм плода проявляется еще в эмбриональном периоде.

При морфометрическом исследовании яичников норок, получавших Селенолин, установили, что площадь ядра примордиальных фолликулов находится в пределах $86,7 \pm 1,9$ $\mu\text{м}^2$, что на 52,4% (при $P < 0,05$) превышает аналогичный показатель в контроле и меньше на 1,5% по сравнению со 2-й группой. Площадь протоплазмы достигает $283,4 \pm 9,8$ $\mu\text{м}^2$, что на 20,76% выше данной величины у интактных животных (при $P < 0,05$). По сравнению со 2-й группой эта величина находилась в одинаковых пределах. Значение ядерно-протоплазменного отношения составляет $0,31 \pm 0,01$, что на 24% превышает аналогичный показатель у интактных животных (при $P < 0,05$) и на 3,1% меньше по сравнению со 2-й группой (рис. 3). Возможно, селен стимулирует внутриклеточный синтез, а увеличение ЯПО свидетельствует о повышенной функциональной активности примордиальных фолликулов.

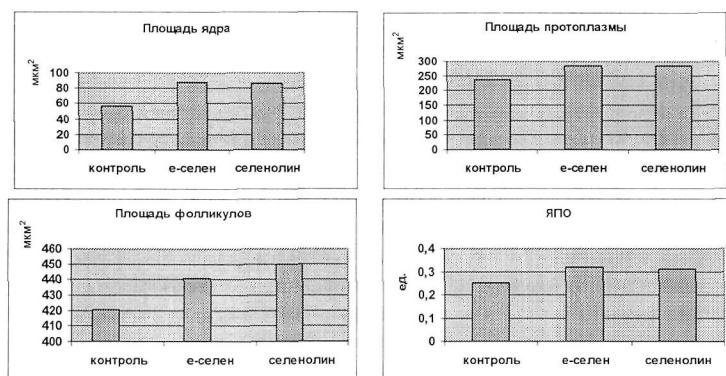


Рис. 3. Площадь ядра, протоплазмы, фолликулов и значение ядерно-протоплазменного отношения примордиальных фолликулов яичников норок контрольной и опытной групп.

В строге яичников у норок с применением Е-селена и Селенолина, количество атретических тел на 46,3% и на 47,76% соответственно, меньше аналогичного показателя по сравнению с контролем (при $P < 0,05$). По нашему мнению, селен и витамин Е способствуют структурно-функциональной нормализации клеточных мембран.

Присутствие в яичниках норок испытуемых групп третичных, преовуляторных фолликулов и желтых тел на разных стадиях генерации свидетельствует о том, что селеновые препараты активизируют функциональную деятельность морфологических структур яичников, инициируют фолликулярную и лютеиновую фазы, таким образом, стимулируя генеративную функцию овариальных желез.

При определении оптической плотности ДНК и РНК клеток в группе норок после воздействия Селенолина выявили, что концентрация ДНК и РНК в примордиальных фолликулах, в фолликулярных клетках вторичных фолликулов, клетках лучистого венца и зернистого слоя третичных фолликулов была выше по сравнению с таковыми показателями в контрольной и 2-й опытной группе. Данное явление мы связываем с усилением внутриклеточного синтеза нуклеиновых кислот и повышением функционального уровня клеток. Можно констатировать активизацию прерителлогенеза (фаза малого роста) и вителлогенеза (фаза большого роста).

При постановке ШИК-реакции выявили, в просвете яйцевода норок с применением Селенолина содержатся секреторные продукты, включающие ШИК-положительные вещества (++++), интенсивно выделяемые клетками покровного эпителия. В просвете маточных желез рогов и тела матки содержится секреторный продукт в виде капли с ШИК-положительным веществом (++++).

При гистологическом исследовании яйцевода, рогов и тела матки отметим, что у самок, получавших Селенолин, клетки покровного эпителия яйцевода, эпителиоциты маточных желез находятся в состоянии высокой функциональной активности (фаза выделения секрета). Выделение секрета служит стимулом для усиления клеточной активности: синтез белка увеличивается, а объем ядра нарастает. Усиление функциональной активности ядра отражается на корреляции между ДНК и объемом ядра (К.Ташке, 1980). В нашем случае, происходит увеличение концентрации ДНК в ядрах клеток покровного эпителия яйцевода, эпителиоцитов маточных желез и РНК в их цитоплазме, как следствие усиления внутриклеточного синтеза, повышения функциональной деятельности клеток.

Показателем функциональной активности клеток является ядерно-протоплазменное отношение (К. Ташке, 1980). При морфометрии эпителиальных клеток покровного и железистого эпителия яйцеводов и матки выявили, что в опытных группах наблюдается тенденция к увеличению количества эпителиоцитов с высоким значением ЯПО, характеризующее высокую функциональную активность. В контроле выявляются железы с низкой функциональной активностью.

В группе норок после воздействия селенсодержащих препаратов наблюдается нормализация структуры стромы яичников, яйцеводов, рогов и тела матки, соединительная ткань распределена равномерно.

Таким образом, селенсодержащие препараты стимулируют репродуктивную функцию самок норок, повышают их оплодотворяемость и плодовитость, способствуют увеличению сохранности и качественных показателей потомства, улучшению гематологических и биохимических показателей крови пушных зверей. Препараты селена инициируют оогенез, активизируют функциональную деятельность морфологических структур яичников, инициируют фолликулярную и лютеиновую фазы, в результате, стимулируя генеративную функцию овариальных желез, нормализуют обменные процессы в органах полового аппарата, стимулируют секреторную активность эпителиоцитов яйцеводов, желез рогов и тела матки, способствуют усилению синтеза ДНК и РНК, повышают функциональный потенциал клеток. Наилучшие результаты были получены у норок, получавших Селенолин. Это связано с его меньшей токсичностью, высокой биодоступностью и пролонгированным действием.

3. ВЫВОДЫ

1. Применение селенсодержащих препаратов половозрелым норкам с недостаточностью селена в крови положительно влияет на репродуктивные качества, – повышение оплодотворяемости, плодовитости, а также улучшает качественные показатели и сохранность их потомства.

2. Установлено позитивное действие препарата Е-селен на показатели крови норок:

- повышение уровня гемоглобина и эритроцитов на 34,7% и 26,4%;
- повышение содержания общего белка на 19,9% за счет увеличения альбуминов на 6,15%, α -глобулинов на 25,6% и γ -глобулинов на 52%;
- отмечено положительное влияние на фосфорнокальциевый обмен: содержание и кальция, и фосфора на 13,6% превышало аналогичный показатель в контроле;
- повысился уровень витамина Е в сыворотке крови.

3. Выявлено положительное действие Селенолина на показатели крови норок:

- повышение уровня гемоглобина и эритроцитов на 37,9% и 30,9%;
- повышение содержания общего белка на 21,66% за счет увеличения альбуминов на 10,7%, α -глобулинов на 43,8% и γ -глобулинов на 33,4%;
- нормализация минерального обмена: содержание кальция на 36%, фосфора на 28,6 % превышало аналогичный показатель в контроле;
- повышение содержания витамина Е.

4. Введение Е-селена и Селенолина половозрелым самкам до гона способствовало активизации герминативной функции яичников их потомства (самок 2 этапа опыта), выражающееся:

- в инициации оогенеза, о чем свидетельствует увеличение количества примордиальных фолликулов в яичниках;
- в увеличении площади ядра, протоплазмы, фолликулов, значения ЯПО, концентрации ДНК в ядрах и РНК в цитоплазме ооцитов примордиальных фолликулов у норок;
- в активизации внутриклеточного синтеза в фолликулярных клетках вторичных фолликулов, фолликулярных клетках лучистого венца и зернистого слоя третичных фолликулов, инициации фазы малого роста (превителлогенеза) и большого роста (вителлогенеза);
- в активизации роста фолликулов, их созревании и овуляции, что подтверждает присутствие в яичниках опытных норок преовуляторных фолликулов и желтых тел.

– Количество атретических тел на площади гистосреза яичника самок 2-й группы и 3-ей группы меньше такового показателя по сравнению с контролем.

5. Специфическая особенность Е-селена проявляется в усилении пролиферации клеток покровного эпителия, а также в умеренной активизации секреторной активности эпителиоцитов яйцевода и маточных желез.

6. Специфическая особенность Селенолина выражается в значительной активизации секреторной функции клеток покровного эпителия яйцевода, эпителиоцитов маточных желез рогов и тела матки, в нормализации структуры ткани полового аппарата.

7. Наилучшие показатели были получены в группе норок, получавших Селенолин, в виду более высокой эффективности, меньшей токсичности и большей биодоступности по сравнению с препаратом Е-селен.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Результаты эксперимента позволяют рекомендовать специалистам в звероводческих хозяйствах использование селенсодержащих препаратов для стимуляции воспроизводительной способности половозрелых норок, повышения оплодотворяемости и плодовитости норок, увеличения сохранности их потомства, для повышения приростов у молодняка, улучшения гематологических и биохимических показателей крови пушных зверей.

2. Полученные данные рекомендуем использовать в учебном процессе по дисциплинам анатомия, гистология на биологических и ветеринарных факультетах высших и средних профессиональных учебных заведений, а также при написании учебников, монографий.

5. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Лапина, Т.И. Влияние селена на воспроизводительную функцию животных/ Т.И. Лапина, Л.В. Иванова// Диагностика, лечение и профилактика заболеваний с.х. животных: Сборник научных трудов.– СтГАУ.– Ставрополь: «АГРУС», 2005. – С.14-15.
2. Иванова, Л.В. Гистологическое строение и некоторые морфометрические показатели матки самок норки американской/ Л.В. Иванова// «Естествознание и гуманизм», Томск, 2005.– №5.– Т. 2.– С.75.
3. Лапина, Т.И. Морфометрическая характеристика яичников норок в норме и после применения препарата «Е-селен»/ Т.И. Лапина, Л.В. Иванова// Актуальные проблемы ветеринарного акушерства, гинекологии и биотехники размножения животных: Сборник научных трудов. – СтГАУ. – Ставрополь: «АГРУС», 2007. – С.144-147.
4. Лапина, Т.И. Сравнительная характеристика яичников норок в норме и после применения препарата «Е-селен»/ Т.И. Лапина, Л.В. Иванова// Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных: Сборник научных трудов.– Ставрополь: «АГРУС», 2007.– С.270-273.
5. Иванова, Л.В. Применение препарата «Е-селен» при выращивании норок/Л.В. Иванова, Т.И. Лапина// Научно-практический журнал последипломого образования «Ветеринарная практика» №2 (37) 2007, Изд. института ветеринарной биологии, Санкт-Петербург. – С. 38-42.
6. Иванова, Л.В. Эффективность применения селеносодержащих препаратов в звероводстве/ Л.В. Иванова// «Вестник ветеринарии».– 2007.–№43. – С.29-30.
7. Лапина, Т.И. Эффективность применения селеносодержащих препаратов в звероводстве/ Т.И. Лапина, Л.В. Иванова// Методические рекомендации. – Ставрополь: «Сильная реклама», 2008.– 20с.

17

Подписано в печать 7.10.2008 г. Формат издания 60x84/16.

Усл. печ. л. 1,25. Гарнитура «Таймс».

Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 150 экз. Заказ №559.

ООО «Сильная реклама», 355042, г. Ставрополь, ул. Пирогова, 15/1

Тел. (8652) 23-25-22, e-mail: info@reklamaprint.ru

Отпечатано в ООО «Сильная реклама»