

MLADI ZA NAPREDEK MARIBORA 2018

35. srečanje

# **UČINKI APILARNILA NA SPERMATOGENEZO IN PRIRAST**

**Raziskovalno področje: veterinarstvo**

**INOVACIJSKI PREDLOG**

Avtor: NIKA GREGORIČ, AMANDA PAVLIČ

Mentor: DARJA JUVAN PASTIRK

Šola: BIOTEHNIŠKA ŠOLA MARIBOR

**Maribor, februar 2018**

MLADI ZA NAPREDEK MARIBORA 2018

35. srečanje

# **UČINKI APILARNILA NA SPERMATOGENEZO IN PRIRAST**

**Raziskovalno področje: veterinarstvo**

**INOVACIJSKI PREDLOG**

**Maribor, februar 2018**

<b>KAZALO</b>	
<b>POVZETEK.....</b>	3
<b>ZAHVALA.....</b>	4
<b>1. UVOD .....</b>	5
<b>2. HIPOTEZE .....</b>	5
<b>3. TEORETIČNE OSNOVE .....</b>	5
<b>3.1 Apiterapija .....</b>	5
<b>3.1.1 Oblike apiterapije.....</b>	5
<b>3.2 Apilarnil .....</b>	6
<b>3.2.1 Kaj je Apilarnil? .....</b>	7
<b>3.2.2 Fizikalno kemične značilnosti svežega apilarnila .....</b>	7
<b>3.2.3 Liofiliziran apilarnil .....</b>	7
<b>3.2.4 Fizikalno kemične lastnosti liofiliziranega apilarnila.....</b>	8
<b>3.2.5 Indikacije apilarnila .....</b>	8
<b>3.2.6 Kontraindikacije apilarnila.....</b>	8
<b>4. METODE DELA IN MATERIALI .....</b>	9
<b>4.1 Odmerjanje apilarnila .....</b>	9
<b>4.2 Dajanje apilarnila merjascem .....</b>	9
<b>4.3 Dajanje apilarnila kuncem .....</b>	9
<b>4.4 Dajanje apilarnila prepelicam.....</b>	10
<b>5. REZULTATI .....</b>	11
<b>5.1 Rezultati pri merjascih .....</b>	11
<b>5.2 Rezultati pri kuncih.....</b>	13
<b>6. RAZPRAVA.....</b>	13
<b>7. SKLEP .....</b>	14
<b>8. DRUŽBENA ODGOVORNOST.....</b>	14
<b>9. VIRI IN LITERATURA .....</b>	15

### **Kazalo slik, grafov in tabel**

Slika 1: 7dni stara ličinka čebele–trot .....	7
Slika 2: Tehnica KERN 440-45N.....	9
Slika 3: Tehnica OHAUS ANALYTICAL Standard .....	10
Slika 4: Pakiranja apilarnila ter brizge. ....	10
Tabela 1: Prikazi merjaščevih vrednosti semena.....	12
Graf 1: Prikaz tehtanja kuncev obeh skupin.....	13

## **POVZETEK**

Inovacijski predlog je sestavljen iz dveh delov. Prvi del je zaradi nepoznavanja namenjen teoretični razlagi apilarnila. Drugi del pa temelji na empiričnem raziskovanju, pri katerem sva s pomočjo podatkov, pridobljenih z izvajanjem poskusov in beleženjem rezultatov, ugotavlja učinek apilarnila na zastavljene hipoteze.

Apilarnil se je polagal živalim peroralno. Testiran je bil na treh merjascih, dveh kuncih in treh prepelicah.

Merjascem se je vmešal med krmo. Kasneje smo ocenjevali kvaliteto in kvantiteto semena. Kuncem in prepelicam pa se je apliciral s pomočjo brizge, v kateri je bila raztopina apilarnila in vode. Opazovali prirast in sekundarno spolno aktivnost.

Pri živalih ni bilo opaziti nobenih neželenih učinkov.

## **ZAHVALA**

Najin inovacijski predlog bi stežka udejanili sami. Zahvaljujeva se osemenjevalnemu centru na Ptuju, kjer so merjascem dajali apilarnil in beležili vse potrebne rezultate, ki so nama prišli še kako prav.

Posebej sva hvaležni najini mentorici, ki nama je vse od ideje dalje pomagala, nama svetovala s strokovnim vodenjem in pomočjo pri interpretaciji rezultatov, brez njene pomoči nama ne bi uspelo opraviti vsega dela, ki sva si ga zadali. Prav tako se zahvaljujeva gospodu ravnatelju in celotnemu kolektivu profesorjev naše šole, ki so nama pomagali pri nakupu pripomočkov, ki sva jih potrebovali, in nama dovolili, da sva nekaj raziskav lahko opravili tudi v času pouka. Za jezikovni pregled raziskovalne naloge se zahvaljujeva profesorju slavistu.

## **1. UVOD**

Premalokrat pomislimo, koliko naravnih danosti imamo v naši prelepi Sloveniji. Spadamo v svetovni vrh v poraščenosti z gozdovi in z zelenimi površinami, imamo mnogo avtohtonih vrst živali, med drugim tudi kranjsko čebelo, kar morda ni zgolj naključje, da ne bi uporabili tega, kar nam narava ponuja in tako porabili manj farmacevtskih pripravkov. S tem bi storili veliko za naše zdravje in ohranili naravo.

Natančneje naju je zanimal stranski produkt čebel, tako imenovani apilarnil. Zanj naju je navdušila najina profesorica in hkrati mentorica te raziskovalne naloge.

Raziskave na ljudeh so pokazale, da se pri moških bistveno poveča libido, izboljša počutje ter odpornost, pri ženskah plodnost, testirancem pa sta se povečala energija in apetit.

## **2. HIPOTEZE**

1. Apilarnil bo pozitivno vplival na libido in spermatogenezo merjascev.
2. Zaužitje apilarnila bo vplivalo na prirast kuncev in prepelic, tako da se bo prirast povečala.

## **3. TEORETIČNE OSNOVE**

### **3.1 Apiterapija**

Apiterapija je zdravljenje ljudi in živali z zdravilnimi pripravki čebeljih produktov, hlapov in vonjav iz naseljenega panja.

Začetki apiterapije segajo daleč v preteklost. Prvi spontani apiterapetvi so bili antični ljubitelji medu, saj so po njegovem zaužitju opazili povečano življensko energijo.

#### **3.1.1 Oblike apiterapije**

MED je naravna sladka snov, ki jo izdelajo čebele iz izločkov živih delov rastlin ali izločkov žuželk. Je zelo kompleksno živilo, ki vsebuje okrog 200 različnih snovi. Glavna sestavina medu je vodna raztopina ogljikovih hidratov (fruktoza, sahroza, maltoza, oligo- in polisaharidi).

**CVETNI PRAH** ali **PELOD** je značilen za vsako posamezno cvetočo rastlinsko vrsto. Nastaja v štirih podolgovatih pelodnih vrečkah. V njem najdemo pomembne aminokisline, maščobne kisline, vitamine, provitamine ter inhibine, ki zavirajo razvoj nekaterih bakterij.

**MATIČNI MLEČEK** je na prvem mestu hrana za čebeljo matico in čebeljo zalego. Proizvajajo ga mlade čebele, ki so stare od 6 do 14 dni, v golnih žlezah na glavi. Vsebuje vodo, lipide, spolne hormone, encime, rudninske snovi in sladkorje.

**PROPOLIS** služi čebelam kot zadelavina za luknje v panju ter zaščita pred mikrobi. Čebele s propolisom prevlečejo celotno notranjost panja ter celic v satju, da matica kasneje vanje leže jajčeca. Pri preučevanju propolisa so v njem ugotovili 149 različnih organskih in 22 anorganskih snovi.

**ČEBELJI VOSEK** izdelujejo medonosne čebele v voskovnih žlezah. Je nepogrešljiva komponenta pri kozmetičnih in farmacevtskih proizvodih.

**ČEBELJI STRUP** je čebelji obrambni sistem, saj se pred vsiljivci branijo s strupenimi piki. Čebelji stup se uporablja za farmacevtske proizvode za zdravljenje sklepnih obolenj. Znane so ugotovitve, da zmanjšuje bolečine, znižuje krvni tlak, znižuje količino holesterola v krvi.

### **3.2 Apilarnil**

Apilarnil je, kljub svojim mnogovrstnim učinkovitim snovem, najmanj znan čebelji proizvod. Pred tridesetimi leti ga je povsem po naključju odkril romunski čebelar Nicolae Iliesiu, ko je opazoval sosedove račke. Videl je, da se v tej pomladni rački razvijajo hitreje kot prejšnja leta. V temeljni raziskavi je ugotovil, da je to posledica krmljenja s trotovskimi lavrami.

Ko je ugotovil, da gre za zelo pomembno odkritje, je pričel raziskovati povezavo z ekstraktom trotovskih ličink. Njegovo raziskavo so podprli farmacevti, biokemiki, raziskovalci in člani romunske čebelarske zveze.

Beseda apilarnil je sestavljenka iz več besed,

API = latinsko ime za čebelo

LAR = larva ozioroma ličinka

N = prva črka ustvarjalca imena NICOLAE

IL = prvi dve črki ustvarjalčevega priimka ILIESIU

### **3.2.1 Kaj je Apilarnil?**

Apilarnil je popolnoma naravni izdelek, ki ga pridobimo iz čebeljih lavr. To je ekstrakt šest do sedem dni starih trotovskih ličink. Celica vsebuje od 6 do 7 dni stare ličinke, specifična hranila zanje, cvetni prah, med ... in sledi propolisa.



Slika 1: 7dni starla ličinka čebele – trot.

### **3.2.2 Fizikalno kemične značilnosti svežega apilarnila**

Apilarnil je znan po tem, da je zelo bogat z beljakovinami. Vsebuje makro- in mikroelemente ter ogljikove hidrate. Vsebnost kislin je z pH 5,6–6,9, vsebnost vode je med 65–75 %, suhe snovi vsebuje med 25–35 %, beljakovin med 9–12 %, ogljikovih hidratov skupaj vsebuje med 6–10 %, lipidov med 5–8 %, pepela lahko vsebuje največ 2 %, nedoločenih snovi pa 3 %. Gostota znaša med 1,1 in 1,2.

Apilarnil pridobivamo s tritiranjem, homogeniziranjem, filtriranjem in liofilizacijo.

### **3.2.3 Liofiliziran apilarnil**

Ker smo za naš inovacijski predlog uporabili liofiliziran apilarnil, ga bova podrobnejše predstavila.

Svežemu apilarnilu se z zmrzovanjem odstrani vlaga, nato se ga zmelje. Končni produkt je apilarnil praškaste oblike. Apilarnil je zlato rumene barve, njegov vonj je pa specifično aromatičen (nekateri bi rekli, da ima vonj po siru).

### **3.2.4 Fizikalno kemične lastnosti liofiliziranega apilarnila**

Vsebuje 40 % proteinov in beljakovin, kar 25 % sladkorjev in prav toliko lipidov. Vsebuje tudi veliko mineralov in vitaminov, hormonov predvsem testosterona. Njegov pH znaša okoli 6,2 in ima maksimalno 5 % vode.

### **3.2.5 Indikacije apilarnila**

Apilarnil ima predvsem "moškostno" pospeševalne lastnosti, saj vsebuje hormon testosteron. Glavne lastnosti apilarnila so anabolna stimulacija. Učinkuje enako kot matični mleček, deluje antivirusno, ima biostimulacijski učinek, kar pomeni, da okrepi imunski sistem, izboljšuje razvoj spermijev, povečuje apetit, nudi krepitev telesne energije.

Ima od 5- do 10-krat večji učinek steroidnih hormonov kot matični mleček.

Primeren je za zunanjo ali notranjo uporabo. Notranja uporaba obsega cono ust in žrela, želodčno-črevesno cono in cono spolnih organov. Medtem ko zunanja uporaba obsega pripravke iz apilarnila za oči, nos, ušesa in kožo. Kot pripravek ga uporabljam surovega ali predelanega v raztopine, razpršila, inhalacije, kreme, tablete, svečke, mila, šampone, kapljice in pripravke s sladili z medom in čokolado, ki izboljšujejo njegov specifičen okus.

Z njim lahko dokrmljujemo živali, prav tako ima zdravilni učinek tudi na ljudi. Prepričuje nekatere bolezni in močno zviša imunski sistem. Prav tako je primeren za športnike, bolne ljudi, predvsem, če obolevajo z anoreksijo, presnovnimi boleznimi, kronično utrujenostjo, psihično izčrpanostjo, predčasnim staranjem in podobno.

### **3.2.6 Kontraindiracije apilarnila**

Če ga predoziramo, se pojavijo prebavne motnje, znaki zastrupitve, nespečnost in alergije. Pri predoziranju lahko nastane tudi hiperspermatogeneza.

## **4. METODE DELA IN MATERIALI**

### **4.1 Odmerjanje apilarnila**

Apilarnil smo za vsako posamično žival pakirali posebej, tehtali in pakirali smo ga v šolskem laboratoriju. Uporabili smo ApiDrohn® - liofiliziran apilarnil.

### **4.2 Dajanje apilarnila merjascem**

Pri krmljenju merjascev z apilarnilom nam je zelo pomagal Osemenjevalni center Ptuj, ki je merjascem 1-krat dnevno polagal apilarnil v krmo. Izbrali so tri merjasce, ki so imeli slabšo kvaliteto sperme, kasneje so ob jemanju semena beležili podatke.

Dnevni odmerek apilarnla za merjasce je znašal 8 gramov. Apilarnil so prejemali 21 dni.



Slika 2: Tehtnica KERN 440-45N.

Ob odvzemu semena se je najprej ocenil merjaščev libido oziroma spolni nagon. Ko je bilo seme vzeto, so se beležili naslednji podatki: količina, gostota, gibljivost semenčic (progresivno gibljivi patološko gibljivi in negibljivi) ter morfologija. Rezultate so analizirali s pomočjo programa AndroVision®.

### **4.3 Dajanje apilarnila kuncem**

Za začetek smo si izbrali mlado leglo kuncev.

Ko so bili kunci stari 3 tedne, smo jih začeli 1-krat tedensko tehtati. Težo smo zabeležili v gramih. Izračunali smo prirast v gramih od prejšnjega tehtanja ter povprečno težo.

Kunce smo pri starosti 7 tednov odstavili od matere in jih ločili v dve skupini: skupino A (dva kunca) in skupino B (dva kunca). Skupini A se je dnevno peroralno aplicirala raztopina vode z dodatkom 0,02g apilarnila. Obe skupini (skupina A in B) smo vsake 3 dni tehtali, dnevno smo beležili količino zaužite krme ter opazovali splošno obnašanje živali.

Aplikacija raztopine v skupini A in tehtanje obeh skupin ter beleženje se je opravljalo od 21. novembra do 4. januarja (45 dni).



Slika 3: Tehnica OHAUS ANALYTICAL Standard



Slika 4: Pakiranja apilarnila ter brizge.

#### **4.4 Dajanje apilarnila prepelicam**

Imeli smo skupino šestih prepelic. Ločili smo jih v dve skupini po 3 prepelice. Prvi skupini smo dajali apilarnil 30 dni v odmerku 0,02g. Skupina, ki je prejemala apilarnil, je postala agresivnejša, pri prirastu pa ni bilo opaziti razlike.

## 5. REZULTATI

### 5.1 Rezultati pri merjascih

Pri testiranih merjascih je količina semena povprečno naraščala, število progresivno gibljivih semenčic se je povečalo (največja količina odvzetega semena ja bila pri vseh pri osmem odvzemenu semenu). Povprečno je število patoloških semenčic upadal.

Od tod bi lahko razbrali, da bi dajanje apilarnila v krmo pozitivno vplivalo na seme plemenskih merjascev.

Merjasec 1		Gibljivost				Morfologija	
Libido	Količina	Gostota	prog. gib.	pat.gib.	negibljivi	normalni	morfološko spremenjeni
4	200	461	60	20	20	82	18
3	200	423	65	20	15		
3	190	450	70	10	20		
4	210	456	70	10	20	78	22
4	180	488	70	10	20		
4	215	496	70	20	10	83	17
4	220	512	70	15	15	79	21
4	225	492	75	15	10	81	19

### Merjasec 2

Libido	Količina	Gostota	prog. gib.	pat.gib.	negibljivi	normalni	morfološko spremenjeni
4	200	551	70	20	10	73	27
4	205	465	70	10	20		
4	250	440	75	15	10		
4	235	589	75	15	10	77	23
4	190	499	75	15	10		
4	220	538	75	10	15	82	18
4	215	505	75	10	15	84	16

4	270	489	75	10	15	80	20
---	-----	-----	----	----	----	----	----

### Merjasec 3

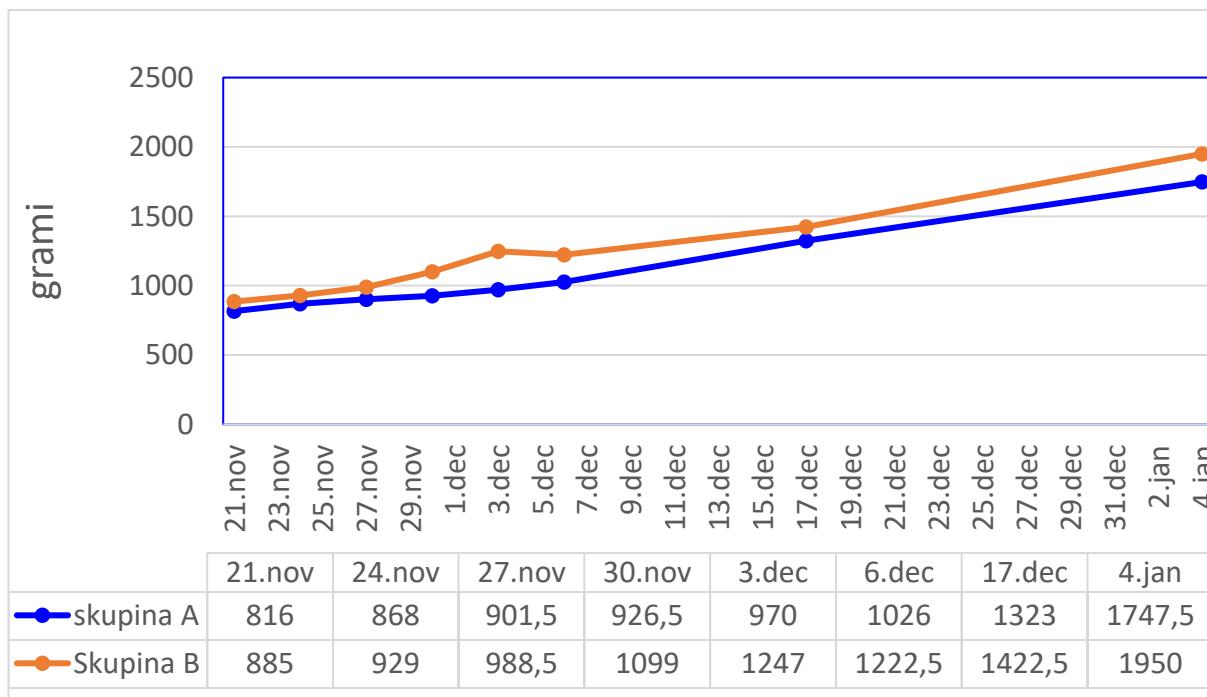
Libido	Količina	Gostota	prog. gib	pat.gib	negibljivi	normalni	morfološko spremenjeni
4	200	523	65	25	10	72	28
4	220	348	70	10	20		
4	230	431	75	15	10		
4	250	483	75	15	10	75	25
4	250	522	80	10	10		
4	235	503	75	10	15	82	18
4	270	496	80	10	10	79	21
4	290	406	80	10	10	86	14

Tabela 1: Prikazi merjaščevih vrednosti semena.

MNENJE GREGORJA PLEVNIKA (Osemenjevalni center Ptuj):

»Ejakulati so bili boljši. Glede na morfološko sliko je bilo pri zadnjih odvzemih manj napak na glavi in akrosomu, vendar je za takšno analizo podatkov malo premalo. Je pa dejstvo, da so bili ejakulati teh merjascev pred tretiranjem zelo mejni, zdaj pa so popolnoma vredu oziroma brez nadaljnatega uporabni.« (Gregor Plevnik, dr. vet. med.)

## 5.2 Rezultati pri kuncih



Graf 1: Prikaz tehtanja kuncev obeh skupin..

Pri kuncih lahko iz tabele razberemo, da apilarnil ni bistveno vplival na prirast. Tudi spolni nagon pri skupini A se ni pričel kazati nič prej kot pri skupini B.

## 6. RAZPRAVA

Omenili sva že, da je apilarnil dokaj nov izdelek iz sedem dni starih trotovski ličink.

V osemenjevalnem centru Ptuj, v katerem so merjascem dodajali apilarnil, imajo merjasci z dobrim libidom, zato ga ni bilo potrebno izboljševati. Dodajanje apilarnila je povzročilo povečanje števila progresivno gibljivih semenčic. Izboljšave so se pokazale tudi v morfologiji. S tem potrjujeva prvo hipotezo, da bi lahko bil apilarnil merjascem, ki imajo slabšo kvaliteto sperme, pomemben dodatek v krmi.

Dodajanje apilarnila kuncem ni vplivalo na njihov prirast ali na hitrejše kazanje spolnega nagona. Od tod bi lahko domnevali, da kunci niso občutno reagirali na steroide v apilarnilu.

Apilarnil, ki je bil dodan hrani prepelicam pri dveh tednih starosti, ni bistveno vplival na rast v primerjavi s tistimi prepelicami, ki ga niso uživale. Začeli so se le kazati znaki agresije in večje teritorialnosti.

Omenili bi radi tudi raziskavo o brojlerjih. Apilarnil so dajali štiridesetim živalim 42 dni, sprememb v priraščanju ni bilo, kazala se je le povečana agresivnost. Po besedah H. Sumaherja naj steroidi ne bi vplivali na rast broljerjev.

## **7. SKLEP**

Z našo raziskavo smo ugotovili, da apilarnil ugodno vpliva na spermatogenezo merjascev. Pri analizi semena smo ugotovili, da se je število progresivno gibljivih semenčic povečalo tudi do 15 %. Pri dveh merjascih je število spremenjenih semenčic upadlo do 50 %. S tem potrjujemo prvo hipotezo. Drugo hipotezo smo ovrgli, saj apilarnil ni imel učinka na kunce. Predvidevamo, da do sprememb ni prišlo zaradi specifične prebave pri kuncih.

Zavedamo se, da smo v analizo vključili mali vzorec živali, zato bi morali za nadaljnjo raziskovanje povečati vzorec.

## **8. DRUŽBENA ODGOVORNOST**

S tem inovacijskim predlogom sva želeti ljudi seznaniti o uporabnosti apilarnila. Apilarnil je stranski produkt čebeljih larv, ki ga prevečkrat zavrzemo, saj ne vemo, ali je učinkovit in kako pozitivno vpliva predvsem na ljudi in tudi živali.

Cilj, ki sva si ga zastavili, je bil naslednji: da bi učinke apilarnila testirali na živalih in bi ga kasneje uporabljali oziroma dodajali v krmo živalim. Zato bi lahko dobili bolj odporne, produktivne in zdrave rejne živali.

## **9. VIRI IN LITERATURA**

1. Bokal L., ČEBELARSKI TERMINOLOŠKI SLOVAR, Ljubljana 2008.
2. Korž V. N., Čebele nam dajejo zdravje, Založba Finesa, Maribor 2015.
3. Kozmus P., Noč B., Vrtačnik K., BREZ ČEBEL NEBO ŽIVLJENJA, Žirovnica 2017.
4. Plut S., Med, citirano 14. 10. 2017, dostopno na: <http://www.czs.si/content/C21>
5. Plut S., Cvetni prah, citirano 14. 10. 2017, dostopno na: <http://www.czs.si/content/C22>
6. Plut S., Propolis, citirano 14. 10. 2017, dostopno na: <http://www.czs.si/content/C23>
7. Plut S., Matični mleček, citirano 14. 10. 2017, dostopno na: <http://www.czs.si/content/C24>
8. Plut S., Čebelji strup, citirano 14. 10. 2017, dostopno na: <http://www.czs.si/content/C25>
9. Plut S., Čebelji vosek, citirano 14. 10. 2017, dostopno na: <http://www.czs.si/content/C26>
10. Yucel B., Acikgoz Z., Bayraktar H., The Effects of Apilarnil (Drone Bee Larvae) Administration on Growth Performance and Secondary Sex Characteristics of Male Broiler, September 2011, Journal of Animal and Veterinary Advaces

Slika 1: Vlado Pušnik

Slika 2, 3 in 4: last avtorja naloge