

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ НА ВИЖИВАНІСТЬ СПЕРМІЇВ ТА ЇХ ЗАПЛІДНЮВАЛЬНУ ЗДАТНІСТЬ

Н. Г. Харута, В. І. Шеремета

Національний університет біоресурсів і природокористування України

У статті наводяться дані про вплив біологічно активної речовини при додаванні її до середовища «Біоконсан» на виживаність спермійв кнурів. Показано, що речовина з антигістамінною дією покращує виживаність спермійв кнурів у порівнянні з контролем. Осіменіння свиноматок спермою з розбавником до якого додали речовину з антигістамінною дією в концентрації 0,2 мкл/мл не впливає негативно на запліднювальну здатність спермійв, оскільки заплідненість свиноматок підвищується на 10%. При цьому багатоплідність та великоплідність свиноматок залежно від породи кнура залишаються без змін, або децю покращуються.

Ключові слова: КНУР-ПЛІДНИК, СЕРЕДОВИЩЕ, ВИЖИВАНІСТЬ, СПЕРМА, СПЕРМІЇ, БАГАТОПЛІДНІСТЬ, ВЕЛИКОПЛІДНІСТЬ, ЗАПЛІДНЮВАЛЬНА ЗДАТНІСТЬ, ЗАПЛІДНЕНІСТЬ

Збереження життєздатності спермійв у розбавленій спермі кнурів є однією з актуальних проблем репродуктивної біотехнології. Починаючи з в 1902 р., коли були зроблені перші дослідження із розбавлення сперми сільськогосподарських тварин І.І. Івановим, і до нині, тривають роботи щодо розроблення і вдосконалення середовищ. Дослідженнями вітчизняних та закордонних науковців доведено, що залежно від складу синтетичних розбавників обмінні процеси в сперміях можливо не тільки контролювати, але і накопичувати та зберігати енергію в клітинах, за рахунок поживних речовин та інших компонентів, тим самим подовжити термін виживаності та запліднювальної здатності спермійв [1].

Відомо, що акросомна реакція характеризується значними ультраструктурними змінами які полягають в злитті плазматичної мембрани з зовнішньою акросомальною мембраною, формування гібридних мембранних пухирців, фенестрацію акросоми і втратою акросомальної шапочки. Для забезпечення повноцінності проходження акросомної реакції та подальшого запліднення важливим є збереження цілісності плазматичної мембрани спермія. З літературних джерел відомо, що прикріплення фосфатних груп до поверхні плазматичних мембран регулює їх проникність та інші фізичні якості [2, 3]. У свою чергу, реакція фосфолювання плазматичних мембран є зворотною та регулюється цАМФ завдяки специфічній протеїнкіназі. Від ступеня фосфорування білкової частини мембран залежить їх структурна цілісність та стійкість до різноманітних факторів, яка пов'язана з внутрішньоклітинною концентрацією АТФ, оскільки зниження в статевій клітині його рівня зумовлює дефосфолювання мембран. Це явище призводить до їх перебудови, зменшення ступеня взаємодії між їх білковими і ліпідними компонентами, полегшує доступність ліпідного шару для дії фосфоліпаз, що суттєво змінює функціональний стан мембран і знижує їх стійкість до травмуючих факторів. Все це призводить до поглиблення змін внутрішньоклітинного середовища, що зумовлює оголення ліпідного шару плазматичної мембрани та незворотному пошкодженню їх в реакціях перикисного окислення фосфоліпідів. Перикисне окислення ліпідів відбувається і в нормі, що являється механізмом регуляції міжмолекулярної взаємодії. Цей процес контролюється антиоксидантами та особливими метаболітами які уповільнюють процеси окислення [4, 5].

Тому додавання різної природи біологічно активних речовин у розріджувач сперми кнурів може підтримати як функціональну активність, так і морфологічну цілісність статевих клітин та подовжити їх виживаність і запліднювальну здатність.

Тому метою роботи було дослідити зміну виживаності спермій кнурів при додаванні різних біологічно активних речовин до синтетичних середовищ та дослідити вплив їх на запліднювальну здатність.

Матеріали і методи

Дослідження виживаності спермій кнурів проводили на базі ННДЦ Білоцерківського національного аграрного університету. Для лабораторних досліджень використовувалася сперма отримана від 3 кнурів порід ландрас, велика біла та трьохпородного гібрида оптимуса. Для розрідження сперми використовували середовище «Біоконсан». Виживаність визначали загальноприйнятим методом на п'яти еякулятах від кожного кнура [6, 7]. Сперму отримували в спермоприймач мануальним методом. Після одержання сперми проводили її оцінку: візуально визначали об'єм, колір, запах та консистенцію і лабораторно — досліджували густину сперми, рухливість і концентрацію спермій (табл. 1). У цілому отримана сперма відповідала вимогам зазначеним у Інструкції зі штучного осіменіння свиней. Нативна сперма дослідних кнурів трьохрічного віку відрізнялася за об'ємом еякуляту та кількістю мертвих спермій — у плідників порід велика біла та ландрас ці показники були вірогідно нижчим та вищим, ніж у інших самців.

Таблиця 1

Характеристика нативної сперми дослідних кнурів (n = 5)

Кнур, індивідуальний №	Об'єм, мл	Рухливість, бал	Концентрація спермій, млн/мл	Мертвих спермій, %	Патологічні форми спермій, %
Ландрас № 2	360±10,0	8,4±0,40	208±2,0	13,8±0,60 ¹	12,8±0,40
Велика біла №1921	288±9,70 ²	8,8±0,20	209±2,0	12,0±0,50	12,4±0,70
Оптимус №2075	360±10,0	8,4±0,24	206±2,4	12,2±0,20	12,2±0,70
Велика біла №72601	290±8,7 ²	8,8±0,10	210±2,0	12,0±0,20	12,0±0,80
Ландрас №7535	350±8,4	8,5±0,31	208±2,0	12,5±0,30	12,5±0,30

Примітка: ¹ — $p < 0,05$; ² — $p < 0,001$ до двох кнурів

Для виготовлення середовища використовували теплу (32–35 °С) дистильовану воду, яку попередньо фільтрували та кип'ятили. Перед розрідженням сперми, до середовища додавали інсуліновим шприцом досліджувану біологічно активну речовину (БАР) антигістамінної дії в різних дозах: I проба (пр.) — 0,01 мл (0,2 мкл/мл); II пр. — 0,02 (0,4 мкл/мл); III пр. — 0,03 (0,6 мкл/мл). Зберігали відібрані проби у стерильних лабораторних пластикових стаканчиках з кришкою, об'ємом 100 см³. Розріджували отриману сперму у співвідношенні 1 : 3. Після розрідження перевіряли рухливість сперми. Через 20 хвилин розріджену сперму ставили в кліматбокс, де вона зберігалась при температурі 17 °С. У контроль БАР не додавали. Рухливість перевіряли кожні 24 години, до припинення прямолінійно-поступального руху та загибелі спермій.

Зміна тривалості виживаності спермій за дії БАР не повинна супроводжуватися негативним впливом на їх запліднювальну здатність. Тому в агрофірмі ТОВ «Глушки» Білоцерківського району Київської області провели дослідження з визначення рівня

заплідненості свиноматок великої білої породи після осіменіння їх спермою розрідженою біоконсаном з добавкою БАР в концентрації 0,2 мкл/мл. Сформували 4 групи свиноматок, яких осіменяли спермою плідників порід велика біла (кнур №72601) та ландрас (кнур №7535). У групи відбирали свиноматок за чергою виявлення статевої охоти після відлучення поросят. Групи формували за принципом груп-аналогів за породою, живою масою, вгодованістю та кількістю опоросів. Свиноматки мали середню вгодованість та живу масу 180–200 кг. Для введення сперми застосовували одноразові катетери. Вагітність діагностували методом сонографії з 20-ї доби після осіменіння. Вагітними вважали тварин після візуалізації ембріонів. Заплідненість визначали за формулою [8, 9].

Результати й обговорення

Після зберігання упродовж 90 годин у кліматбоксі розбавленої сперми як у контрольних, так і дослідних пробах виживаність спермій була у межах від 0 до 1 бала. Через 120 годин у пробах сперми трьох кнурів не було виявлено жодного живого спермія.

Індивідуальний аналіз виживаності спермій у пробах трьох плідників показав, що розбавлення сперми кнура породи ландрас середовищем «Біоконсан» з БАР сприяло збільшенню виживаності статевих клітин. Так, відразу після розбавлення сперми кнура породи ландрас в контрольних пробах активність знизилась на 1 бал порівняно з дослідними. При цьому у I дослідній пробі додавання БАР до розбавника сприяло покращенню виживаності спермій, яке становило 4,0 бали на 60 годину дослідження проти 5,9 балів на 36 годину в контролі (табл. 2).

У кнура великої білої породи за введення в розбавник препарату антигістамінної дії в концентрації 0,2 мкл/мл сприяло подовженню виживаності спермій до 6,0 балів на 60 годину дослідження, порівнянно з контролем — 5,5 балів на 60 годину.

Таблиця 2

Вживаність спермій у розбавленій спермі кнурів із додаванням у розбавник біологічно активної речовини із антигістамінною дією (n = 5)

Проба	Концен-трація БАР, мкл/мл	Після роз-бавлення, бал	Години дослідження, бал			Показник виживання, бал/год.
			24	48	72	
Кнур породи ландрас № 2						
Контрольна	0,0	6,0±0	6,0±0	5,7±0,2	2,0±0,3	5,9/36
Досліна І	0,2	7,0±0	6,3±0,3	6,0±0,3	2,0±0,3	4,0/60
Досліна ІІ	0,4	7,0±0	6,0±0	5,0±0 ¹	1,0±0,3 ²	5,5/36
Досліна ІІІ	0,6	7,0±0	6,0±0	5,0±0 ¹	1,0±0,3 ³	5,5/36
Кнур породи велика біла №1921						
Контрольна	0,0	8,0±0	7,0±0	6,0±0,3	5,0±0,3	5,5/60
Досліна І	0,2	8,0±0	7,3±0,3	6,3±0,3	5,7±0,3 ¹	6,0/60
Досліна ІІ	0,4	8,0±0	7,0±0	6,0±0	4,0±0,3 ²	5,0/60
Досліна ІІІ	0,6	8,0±0	7,0±0	5,0±0,03 ²	4,0±0,3 ²	6,0/36
Кнур оптімус № 2075						
Контрольна	0,0	7,0±0	6,0±0	5,0±0,3	4,0±0	5,5/36
Досліна І	0,2	7,0±0	6,5±0,3	5,7±0,3 ¹	4,5±0,3 ²	6,0/36
Досліна ІІ	0,4	7,0±0	6,3±0,3	5,0±0,3	4,0±0	5,7/36
Досліна ІІІ	0,6	7,0±0	6,0±0	4,5±0,3 ²	2,0±0,3	5,3/36

Примітка: ¹ — p<0,05; ² — p<0,01; ³ — p<0,001 до контролю

У плідника оптімус також за концентрації в розбавнику 0,2 мкл/мл препарату антигістамінної дії покращилась виживаність спермійв до 6,0 балів на 36 годину дослідження., порівнянно з контролем — 5,5 балів на 36 годину.

Отже, введення в розбавник «Біоконсан» БАР в об'ємі 0,2 мкл/мл забезпечує оптимальну концентрацію речовини антигістамінної дії, яка сприяє життєдіяльності спермійв і збільшує їх виживаність.

Осіменіння свиноматок спермою піддослідних кнурів, розбавленою біоконсаном з додаванням антигістамінного препарату, сприяло збільшенню на 10 % кількості супоросних свиноматок (табл. 3).

У досліді отримано 448 поросят, із них 31 (6,8 %) мертвонароджених. У дослідній групі кнура № 72601 кількість новонароджених поросят була більшою на 6,0 %, ніж у контролі, і нараховувала 140 тварин. Загальна кількість поросят у дослідній групі кнура № 7535 порівняно з контролем була більшою на 5,1 %, і становила 109 тварин. Більша кількість поросят у дослідних групах, більш за все, зумовлена вищою заплідненістю свиноматок.

Таблиця 3

Заплідненість піддослідних свиноматок при додаванні до розбавника антигістамінного препарату

Показник	Індивідуальний номер та порода кнура, група			
	№72601, велика біла		№7535, ландрас	
	контрольна	дослідна	контрольна	дослідна
Супоросні, гол.	12	14	9	11
Холості, гол.	8	6	11	9
Заплідненість, %	60	70	45	55

У дослідних свиноматок, яких осіменяли розбавленою спермою кнура №72601 кількість живих поросят становила 130 тварини, що більше на 9,9 %, ніж у контролі. Кількість живих поросят у свиноматок яких осіменяли спермою кнура породи ландрас, розбавленою біоконсаном з БАР, було вірогідно більше на 7,93 % порівняно з контролем. Слід відмітити, що в цій групі було найменше мертвонароджених поросят. Жива маса новонароджених поросят у піддослідних групах була майже однаковою (табл. 4).

У дослідній та контрольній групах кнура породи велика біла кількість свиноматок, які мали в гнізді 10 і більше поросят була однаковою. У кнура ландраської породи в дослідній групі таких свиноматок було більше на 75 %. При цьому також збільшилась на 46,7% кількість поросят з живою масою більше 1000 г (табл. 5).

Таблиця 4

Характеристика новонароджених поросят у свиноматок піддослідних груп

Показник	Індивідуальний номер та порода кнура, група			
	№72601, велика біла		№7535, ландрас	
	контрольна	дослідна	контрольна	дослідна
Кількість поросят у гнізді, гол	10,3±0,4	10,0±0,3	9,6±0,4	9,9±0,4
Живих поросят, гол	9,4±0,4	9,3±0,3	8,4±0,6	9,8±0,3 ¹
Мертвих поросят, гол	0,9±0,2	0,7±0,4	1,2±0,1	0,1±0,3
Жива маса 1 гол, кг	1,0±0,01	1,0±0,01	1,0±0,01	1,0±0,01
Маса гнізда, кг	9,8±0,3	9,7±0,3	9,4±0,3	9,5±0,3

Примітка: ¹ — $p < 0,05$ до контролю

У дослідній та контрольній групах кнура породи велика біла кількість свиноматок, які мали в гнізді 10 і більше поросят була однаковою. У кнура ландраської породи в дослідній

групі таких свиноматок було більше на 75 %. При цьому також збільшилась на 46,7 % кількість поросят з живою масою більше 1000 г (табл. 5).

Таблиця 5

Багатоплідність та великоплідність піддослідних свиноматок

Показники	Індивідуальний номер та порода кнура, група							
	№72601, велика біла				№7535, ландрас			
	Контрольна		Дослідна		Контрольна		Дослідна	
	n	M±m	n	M±m	n	M±m	n	M±m
Кількість свиноматок, що мали в гнізді 10 і більше поросят, гол	8	10,9±0,4	8	10,7±0,3	4	10,5±0,5	7	10,6±0,4
Кількість поросят з живою масою 1 кг і більше, гол	90	1,02±0,01	100	1,02±0,02	60	1,02±0,01	88	1,02±0,02
Кількість поросят з живою масою менше 1 кг	23	0,9±0,02	30	0,9±0,01	16	0,9±0,01	20	0,9±0,01

Отже, додавання до розбавника БАР з антигістамінною дією не знижує запліднювальну здатність спермій, оскільки сприяє тенденції до збільшення на 10 % заплідненості свиноматок. При цьому у свиноматок, яких осіменяли дослідною спермою кнура великої білої породи, не зменшується багатоплідність та великоплідність, а в ландраського плідника ці ознаки значно покращилися.

Висновки

Додавання до розбавника «Біоконсан» біологічно активної речовини з антигістамінною дією сприяє подовженню терміну виживаності спермій без зниження їх запліднювальності та відтворювальної здатності свиноматок.

Перспективи подальших досліджень. Планується дослідити вплив на заплідненість і багатоплідність комбінації біологічно активних речовин які володіють антиоксидантною дією та здатністю до розщеплення мукополісахаридів.

N. Charuta, V. Seremeta

INFLUENCE BIOACTIVE SUBSTANCE ON SURVIVABILITY OF SPERM AND THEIR IMPREGNATING ABILITY

Summary

To the article data are driven about influence of bioactive substance at adding of her to the environment «Bioconsan» on survivability of sperm male hogs. It is shown that substance with an antihistaminic action better survivability of sperm of male hogs by comparison to control. Insemination of sows sperm with semen extender to that added a substance with an antihistaminic action in the concentration of 0,2 мкл/ml does not influence negatively on impregnating ability of sperm, as the impregnated of sows rises on 10%. Thus polycarpousness sows depending on the breed of male hog remain without changes, or some get better.

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ СПЕРМИЕВ И ИХ ОПЛОДОТВОРЯЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ

А н н о т а ц и я

В статье приводятся данные о влиянии биологически активного вещества при добавлении ее к среде «Биоконсан» на выживаемость спермиев хряков. Показано, что вещество с антигистаминным действием улучшает выживаемость спермиев хряков в сравнении с контролем. Осеменение свиноматок спермой с разбавителем к которому прибавили вещество с антигистаминным действием в концентрации 0,2 мкл/мл не влияет негативно на оплодотворяющую способность спермиев, поскольку оплодотворенность свиноматок повышается на 10 %. При этом многоплодность и великоплодность свиноматок в зависимости от породы хряка остаются без изменений, или несколько улучшаются.

1. Плишко Н. Т. Технологии и препараты для повышения воспроизводства животных / Н. Т. Плишко. — Бровары, 2005. — № 6. — 111 с.
2. Комиссарчик Я. Ю. Структура и химический состав клеточных мембран / Я. Ю. Комиссарчик. — М. : Наука, 1975. — С. 8–25.
3. Ясуо Кагава. Биомембраны / Ясуо Кагава. — М. : Высшая шк., 1985. — С. 120–165.
4. Watson P. F. Recent development and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function / P. F. Watson, I. M. Plummer // *Reprod. Fertil. Devel.* — 1995. — V. 7. — P. 871–891.
5. Watson P. F. The response of boar sperm membranes to cold shock and cooling / P. F. Watson, I. M. Plummer // *Deep freezing of boar semen.* — Uppsala. Sweden, 1985. — P. 113–129.
6. Інструкції зі штучного осіменіння свиней / Відпов. за вип. Ю. Ф. Мельник. — К. : Аграрна наука, 2003. — С. 21.
7. Царенко О. М. Фізіологія та патологія розмноження свиней / О. М. Царенко, М. І. Харенко, С. П. Хомин та ін. — Суми : Козацький вал, 2004. — С. 99–101.
8. Харута Г. Г. Прогнозування відтворної функції корів / Г. Г. Харута. — Біла Церква, 1999. — 93 с.
9. Харута Г. Г. Методичні рекомендації по відтворенню стада великої рогатої худоби молочного напрямку / Г. Г. Харута, В. П. Буркат, А. Й Краєвський. — Біла Церква, 1995. — 28 с.

Рецензент: кандидат ветеринарних наук Бабань О.А.