

УДК: 619:618:636.082.453

Харута Н.Г., аспірантка
Шеремета В.І. доктор с.-г. наук
Національний університет біоресурсів і природокористування України

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА ВИЖИВАНІСТЬ СПЕРМІЇВ КНУРІВ

Встановлено, що введення в середовище «Біоконсан» біологічно активних речовин, які розщеплюють мукополісахариди та антигістамінної дії, у концентрації 0,0005 мл та 0,0003 мл подовжує виживаність спермій у розбавленій спермі кнурів.

Однією з актуальних проблем технології відтворення є подовження терміну зберігання сперми поза організмом тварини [1]. З моменту отримання сперми і до введення її в статеві органи самки на спермії впливають різноманітні фактори які погіршують їх виживаність та запліднюючу здатність [2]. Розбавлення забезпечує спермії поживними речовинами, сповільнює швидкість їх руху, знижує інтенсивність обмінних процесів та рН. Для розбавлення сперми використовують як синтетичні так і біологічні середовища склад яких безпосередньо залежить від виду тварин та режиму зберігання. Саме тому при проведенні розбавлення сперми дуже важливим є підбір середовища, оскільки від цього залежить термін виживаності, запліднюючої здатності та якості спермій. Синтетичні середовища містять антиоксиданти, які продовжують життя спермій з збереженням запліднюючої здатності, компоненти які впливають на процеси обміну речовин, стабілізують мембрану [3], попереджують початок капацитації, зміну акросоми [4], та протимікробні препарати [5].

Дослідження виживаності спермій кнурів було розпочато вже в першій половині 20 століття, коли було доведено що рухливість та запліднюючу здатність спермій можна набагато збільшити шляхом розбавлення сперми та підбором відповідного режиму для її зберігання. Протягом багатьох років науковці розробляли та вдосконалювали склад середовищ з метою створення оптимальних умов для збереження спермій. Так, після рецептів глюкозо-сульфатних і глюкозо-тарtratних розріджувачів розробили жовтково-цитратний розріджувач, були створені молочні розріджувачі для сперми жеребця і бугая. Також експерименти проводилися з лимонною кислотою, сольовими розчинами, глиновмістними розчинами та гліцерином. Почали застосовувати різні хіміотерапевтичні речовини та препарати антибіотиків [6] так як вже на той час більшість дослідників розуміли необхідність бактеріального контролю. Відкриттям став ілінойський розбавник перемінної температури, який широко використовувався, поки не були запропоновані розріджувачі з хелатомом [7, 8].

Склад сучасних середовищ для розрідження сперми кнурів забезпечує більш високі показники подовження виживаності спермій, ніж його попередники. Так, на даний час запропоновано різні середовища закордонного виробництва, які зберігають запліднюючу здатність від 3 до 7 чи 10 діб. (BTS, Gold Life, Magapor, Star diluent, ANDROHEP). З вітчизняних середовищ запропоновані до використання такі як „Біоконсан”, ГХЦ-У, ГХЦС чи ГХЦ. Але необхідно зазначити, що частіше використовуються середовища іноземних виробників, що пов'язано з їх більшою

якістю та надійністю. Саме тому актуальним є вдосконалення вітчизняних середовищ.

Метою роботи було дослідити вплив різних біологічно активних речовин на виживаність спермійв кнурів за розбавлення сперми вітчизняним середовищем „Біоконсан”.

Матеріали і методи. Досліди проводили на базі ННДЦ Білоцерківського національного аграрного університету. Для лабораторних досліджень використовували сперму отриману від 4 кнурів трьох порід: велика біла (індивідуальний номер кнура 1921 – вік 2 роки, жива маса – 250 кг, кнур № 1442 – 1 рік, 200 кг), дюроч (кнур № 5143 – 1 рік, 200 кг) та ландрас (кнур № 2 – 2 роки 250 кг).

Сперму отримували мануальним методом у спермоприймач. Після одержання сперми проводили її оцінку: візуально визначали – об’єм, колір, запах та консистенцію; лабораторно – досліджували густину сперми, рухливість і концентрацію спермійв.

Нативна сперма отримана від кнурів під час досліджень за візуальною оцінкою була в межах фізіологічної норми. Мікроскопічна оцінка сперми показала, що активність у дослідних кнурів була майже однаковою, а концентрація спермійв у двох кнурів (№ 2 і №1921) була вірогідно меншою порівняно з двома іншими (табл. 1). Враховуючи різницю в концентрації сперми, а також за живою масою та віком між кнурами, їх розбили на дві групи для визначення впливу досліджуваних біологічно активних речовин (БАР) на виживаність сперми.

Таблиця 1. Характеристика нативної сперми дослідних кнурів, n = 5

Порода кнура, індивідуальний №	Об’єм, мл	Рухливість, бал	Концентрація спермійв, млн/мл
Ландрас № 2	360±10,0	8,4±0,4	208±0,9
Велика біла №1921	288±9,69	8,8±0,3	209±0,9
Велика біла № 1442	204±2,44	9±0	250±0,2
Дюроч № 5143	140±10,0	9±0	248±0,8

Вживаність спермійв кнурів визначали загальноприйнятим методом після розбавлення середовищем „Біоконсан” п’яти еякулятів отриманих від кожного кнура з додавання біологічно активних речовин з антигістамінною дією (БАР 1) та здатних розщеплювати мукополісахариди (БАР 2) [9, 10]. У контролі для розбавлення використовували тільки середовище „Біоконсан”. Середовище готували за такою схемою: підігрівали дистильовану воду до температури 32-35°C після чого повільно змішували з середовищем. Перед розбавленням сперми, до середовища додавали біологічно активні речовини в різних дозах з метою підвищення виживаності спермійв (табл. 2).

Розбавляли отриману сперму у співвідношенні 1:3, 1: 4. Після розбавлення перевіряли рухливість сперми. Через 20 хвилин розбавлену сперму ставили в кліматбокс, де вона зберігалась при температурі 17°C. Рухливість перевіряли кожні 24 години, до припинення прямолінійно-поступального руху та загибелі спермійв.

Результати дослідження. Проведені дослідження показали, що через 120 годин зберігання розбавленої сперми в кліматбоксі у всіх групах жодного живого спермія не було. Через 90 годин виживаність сперми коливалась у межах від 0 до 1 бала як у дослідних, так і контрольних групах незалежно від БАР.

Таблиця 2. Схема досліджень з вивчення впливу різних об'ємів біологічно активних речовин на виживаність спермійв

Порода кнура	Розбавлення еякуляту	Група	Біологічно активна речовина	Об'єм
Велика біла №1921	1 : 3	Контрольна	–	–
	1 : 3	Дослідна I	антигістамінною дією	0,01
	1 : 3	Дослідна II	антигістамінною дією	0,02
Ландрас № 2	1 : 3	Дослідна III	антигістамінною дією	0,03
	1 : 3	Контрольна	–	0,0
	1 : 3	Дослідна I	антигістамінною дією	0,01
Велика біла № 1442	1 : 3	Дослідна II	антигістамінною дією	0,025
	1 : 3	Дослідна III	антигістамінною дією	0,03
	1 : 4	Контрольна	–	–
Дюрок № 5143	1 : 4	Дослідна I	розщеплює мукополісахариди	0,01
	1 : 4	Дослідна II	розщеплює мукополісахариди	0,02
	1 : 4	Дослідна III	розщеплює мукополісахариди	0,03
Дюрок № 5143	1 : 4	Контрольна	–	–
	1 : 4	Дослідна I	розщеплює мукополісахариди	0,01
	1 : 4	Дослідна II	розщеплює мукополісахариди	0,02
Дюрок № 5143	1 : 4	Дослідна III	розщеплює мукополісахариди	0,03

Індивідуальний аналіз показав, що розбавлення сперми кнура породи ландрас біоконсаном з БАР1 сприяло збільшенню виживаності спермійв. Так, відразу після розбавлення активність спермійв у контролі знизилась на 2,4 бала, а у дослідних групах на 1,0 бала. При цьому у I-й дослідній групі додавання БАР 1 до розбавника сприяло покращенню виживання спермійв, яке становило 4,0 бали на 60 годину дослідження проти 6,0 балів при 36 годинах у контролі.

У кнура великої білої породи ефективність дії БАР 1 була меншої сили. Але все ж таки виживання спермійв за введення в розбавник 0,01 мл препарату антигістамінної дії сприяло порівнянню з контролем збільшенню на 0,5 балів виживання спермійв на 60 годину (табл. 3).

Отже введення в розбавник «Біоконсан» БАР антигістамінної дії в об'ємі 0,01 мл сприяє збільшенню виживання спермійв .

У другій групі кнурів сперму яких розбавляли біоконсаном з БАР, яка розщеплює мукополісахариди результати виживаності спермійв були кращими, ніж за введення до розбавника антигістамінного препарату. У кнурів у розбавленій спермі другої дослідної групи, в якій було 0,02 мл БАР 2, виживання спермійв кнурів обох порід становило 6,1 та 6,2 бали на 60 годину, проти 6,0 балів на 36 годину в контролі (табл 4).

Таблиця 3. Вживаність спермій у розбавленій спермі кнурів із додаванням у розбавник біологічно активної речовини із антигістамінною дією, n = 5

Група	Після розбавлення, бал	Години дослідження, бал			Показник виживання, бал/год.
		24	48	72	
Кнур породи ландрас № 2					
Контрольна	6,0±0	6,0±0	5,7±0,2	2,0±0,3	5,8/36
Дослідна I	7,0±0	6,3±0,3	6,0±0,3	2,0±0,3	4,0/60
Дослідна II	7,0±0	6,0±0	5,0±0,03 ¹	1,0±0,3 ²	5,5/36
Дослідна III	7,0±0	6,0±0	5,0±0,03 ¹	1,0±0,3 ³	5,5/36
Кнур великої білої породи №1921					
Контрольна	8,0±0	7,0±0	6,0±0,3	5,0±0,3	5,5/60
Дослідна I	8,0±0	7,3±0,3	6,3±0,3	5,7±0,3 ¹	6,0/60
Дослідна II	8,0±0	7,0±0	6,0±0	4,0±0,3 ²	5,0/60
Дослідна III	8,0±0	7,0±0	5,0±0,03 ²	4,0±0,3 ²	6,0/36

Примітки: ¹p<0,01; ²p<0,001 до контролю.

Отже додавання до середовища «Біоконсан» біологічно активної речовини, яка розщеплює мукополісахариди в об'ємі 0,02 мл. сприяє збільшенню виживаності спермій.

Таким чином, антигістамінні та здатні до розщеплення мукополісахаридів речовини добавлені в середовище «Біоконсан» подовжують виживаність спермій. Біологічно активна речовина, яка розщеплює мукополісахариди зумовлює більший позитивний ефект у плані подовження виживаності спермій, ніж антигістамінна.

Таблиця 4. Вживаність спермій кнурів у розбавленій спермі кнурів із додаванням у розбавник біологічно активної речовини, яка розщеплює мукополісахарид n = 5

Група	Після розбавлення, бал	Години дослідження, бал			Показник виживання, бал/год.
		24	48	72	
Кнур породи дюрк № 5143					
Контрольна	7,0±0	6,3±0,2	5,7±0,3	2,0±0,3	6,0/36
Дослідна I	7,0±0	6,3±0,2	5,0±0,3 ²	1,0±0,3 ³	5,6/36
Дослідна II	7,0±0	6,3±0,2	6,0±0,3	4,0±0,3 ³	6,1/60
Дослідна III	7,0±0	6,0±0,3	5,0±0 ²	0,7±0,2	5,5/36
Кнур великої білої породи № 1442					
Контрольна	7,0±0	6,0±0	5,7±0,3	1,0±0,3	6,0/36
Дослідна I	7,0±0	6,3±0,2	5,0±0,3 ²	0,7±0,2	5,7/36
Дослідна II	7,0±0	6,3±0,2	6,0±0,3	2,0±0,3 ³	6,2/60
Дослідна III	7,0±0	6,0±0,2	5,7±0,3	0,7±0,2	5,8/36

Примітки: ²p<0,01; ³p<0,001 до контролю

У подальших дослідженнях важливим є встановити ефективність спільної дії досліджуваних біологічно активних речовин на виживаність сперміїв кнурів.

Висновки. Модифіковане середовище «Біоконсан» біологічно активними речовинами, що розщеплює мукополісахариди та антигістамінної дії, у концентрації 0,0005 мл та 0,0003 мл подовжує виживаність сперміїв у розбавленій спермі кнурів.

Література

1. Харенко М.І. Сучасний стан та перспективи відтворення в галузі свинарства України / М.І. Харенко Збірник наук. праць // – Луганськ, 2006. – № 63/86. – С. 209 – 212
2. Плишко Н.Т. Способ продления жизни и оплодотворяющей способности половых клеток хряка. / Н.Т. Плишко – Свиноводство – 1965. – № 6. – С. 37 – 41
3. Gadella В.М. The capacitations agent bicarbonate induces protein kinase A- dependent change in phospholipids transbilayer behaviour in the sperm plasma membrane. // Development. – 2000. – V. 127. – P. 2407 – 2420.
4. Watson P.F. Artificial insemination and the preservation of semen. / P.F Watson // Physiology of Reproduction. – Livingstone, Edinburg. – 1990. – P. 747 – 869.
5. Склярів П.Н. Определение влияния антибиотиков (ампицилина и гентамицина) на переживаемость спермиев быков / П.Н. Склярів Науково-технічний бюлетень ІТ УААН // – Харків. – 1998. – №74. – С.44-48
6. Середин В.А. Влияние антибиотиков и их сочетаний на выживаемость спермиев быка/: В.А. Середин Сборник научных трудов Ставропольского СХИ // – Ставрополь, 1983. – С. 15-22.
7. Плишко Н.Т. Способ продления жизни и оплодотворяющей способности половых клеток хряка/ Н.Т. Плишко // – Свиноводство, – 1965. – № 6. –С. 37-41.
8. Плишко Н.Т. / Среды для хранения спермы хряков. / Н.Т. Плишко // – Свиноводство. – 1968.-№3. –С. 19-21.
9. Інструкції зі штучного осіменіння свиней / Відпов. за вип. Ю.Ф. Мельник. – К.: Аграрна наука. – 2003. – С. 21.
10. Царенко О.М., Харенко М.І Фізіологія та патологія розмноження свиней // Видавництво „Козацький вал” – Суми. – 2004. – С. 99-101.

Summary

Influence biologically of active substances is on survivability of sperm of hogs
Charuta N., Sheremeta V.

It is set that introduction to the environment of "Bioconsan" biologically active substances that slit mycopolisaharidis and antihistaminic action, in a concentration 0,0004 mls and 0,0025 mls prolong survivability of sperm in to the divorcee sperm of hogs.

Keywords: the distilled water, sperm, pH-value, environment.