УДК 636. 4. 082. 4. 453. 5

ВПЛИВ РІЗНОЇ КІЛЬКОСТІ ІНАКТИВОВАНИХ СПЕРМІЇВ КНУРА НА ВИЖИВАНІСТЬ ЖИВИХ СПЕРМІЇВ У РІЗНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Бугров О. Д., д. б. н., **Мартинюк І. М.,** асп.
Інститут тваринництва НААН

Наведено дані про вплив різної кількості інактивованих сперміїв кнура (25 %, 50 %, 75 % та 90 %) на виживаність живих у різних середовищах: глюкозо-хелато-цитратному (ГХЦ) середовищі (М. Т. Плішко); глюкозо-хелато-цитратно-сульфатному (ГХЦС) (Т. М. Сілаєвої, І. І. Балашова); глюкозо-хелато-цитратно удосконаленому (ГХЦ-У) (С. І. Сердюка, А. А. Бєлікова) розріджених у співвідношенні 1:1, 1:2, 1:3. У результаті дослідів встановлено, токсичний вплив інактивованих сперміїв на виживаність живих. З підвищенням кількості інактивованих клітин зменшується час виживання сперміїв. Таким чином, виживаність полових клітин у спермі кнурів залежить від присутності в ній інактивованих клітин, чим вищий їх рівень, тим нижча рухливість та абсолютний показник виживаності. Спостерігали загальну закономірність, що в середовищі ГХЦ абсолютний показник виживаності вищий в порівнянні з іншими середовищами. Запропоновано методику з додаванням 25 % та 50 % інактивованих клітин, яку можливо використовувати як тест-підбір для оцінки якості середовищ.

Ключові слова: **середовища, спермії, інактивовані клітини.**

Існують дані вітчизняних (О. Д. Бугров, С. А. Сідашова, 1991 р.) [1] та зарубіжних (Shannon P. Curson B., 1972 р.) [2] авторів, що до токсичної дії постійного рівня мертвих клітин на життєздатність рухливих сперміїв у розріджених еякулятах бугаїв. Але, залишається відкритим питання закономірності впливу різної кількості загиблих сперміїв кнура на виживаність живих у різних середовищах.

Тому проведення дослідів із контролю виживаності сперміїв кнура при додаванні різного рівня інактивованих клітин залишається актуальним.

Метою досліджень було вивчення за лабораторних умов виживаності сперми кнурів при додаванні до дослідних зразків сперми різної кількості інактивованих статевих клітин із того ж еякуляту кнура (25 %, 50 %, 75 % та 90 %) за температури 16-18 та 38 ºС.

Матеріали і методи досліджень. Для дослідження сперму одержували від 5 кнурів породи ландрас в агрофірмі «Шубське» Богодухівського району та господарстві «Агросервіс» Чугуєвського р-ну Харківської області. Рухливість сперміїв була у межах 7-9 балів, концентрація 150-255 млн/мл. Режим використання кнурів у господарствах: одна садка у 3-4 дні. Досліди проводили у лабораторії селекційно-технологічних досліджень у свинарстві та лабораторії трансплантології. Середовищами для інкубації були: глюкозо-хелато-цитратне- (ГХЦ) (М. Т. Плішко) [3]; глюкозо-хелато-цитратно-сульфатне (ГХЦС) (Т. М. Сілаєвої, І. І. Балашова) [4]; глюкозо-хелато-цитратно удосконалене (ГХЦ-У) (С. І. Сердюка, А. А. Бєлікова) [5], які рекомендують для використання у господарствах згідно з Інструкцією із штучного осіменіння (Міністерства аграрної політики України, 2003 р.) [6].

Після отримання сперми її оцінювали за якісними та кількісними показниками. Абсолютний показник виживаності сперміїв визначали за формулою Міло-

ванова В. К. [7].

Свіжоотриману сперму розріджували дослідними розбавниками у співвідношенні: 1:1, 1:2, 1:3 так, щоб кількісне утримання сперміїв із прямолінійно-поступовим рухом у одній пробі знаходилось в межах 40-50 млн/мл.

Свіжоотриману розріджену сперму перед інкубацією вносили у стерильні флакони у визначеному співвідношенні з інактивованою спермою із цього ж еякуляту у наступних відношеннях: 0,75 см³ живої сперми+0,25 см³ інактивованої (25 %); 0,5 см³ живої +0,5 см³ інактивованої (50 %); 0,25 см³ живої + 0,75 см³ інактивованої (75 %) та 0,1 см³ живої + 0,9 см³ інактивованої (90 %), так, щоб кінцевий об'єм сперми був 1,0 см³. У всіх дослідах контролем була свіжоотримана сперма (1 см³) без додавання інактивованих клітин.

Сперму інкубували у термостаті за температури 38 ºС та при кімнатній температурі 16-18 ºС. Після кожної перевірки під мікроскопом (збільшення 100-200 разів) рухливості сперміїв у зразках, флакон поміщали в термостат за температури 38 ºС, та при кімнатній температурі 16-18 ºС і інкубували до повного припинення руху сперміїв. Контроль виживаності проводили відповідно через кожну годину та 1 раз на добу. Дані досліджень біометрично обробляли за Плохинським та були занесені до таблиць [8].

Результати досліджень виживаності сперміїв кнурів при додаванні різної кількості інактивованих сперміїв кнура (25 %, 50 %, 75 % та 90 %) у дослідні середовищі: глюкозо-хелато-цитратне (ГХЦ) середовище (М. Т. Плішко); глюкозо-хелато-цитратно-сульфатне (ГХЦС) (Т. М. Сілаєвої, І. І. Балашова); глюкозо-хелато-цитратно удосконалене (ГХЦ-У) (С. І. Сердюка, А. А. Бєлікова) розріджених у співвідношенні 1:1, 1:2, 1:3 за температури зберігання 16-18 та 38 ºС представлені у таблицях.

Результати досліджень свідчать (табл. 1), що при використанні (ГХЦ) середовища за температури зберігання 16-18 ºС, при розрідженні сперми 1:1 абсолютний показник виживаності сперміїв (Sa) зменшується у порівнянні з контролем (684 од), так при розрідженні сперми 1:1 і додаванні 25 % інактивованих сперміїв цей показник знижується на 540,2 од. або 4,75 раза, при цьому розрідженні, але при додаванні 50 % інактивованих сперміїв, цей показник знижується з 684 од. до 70,8 од. або на 613,4 од. у 9,66 раза, при цьому розрідженні, але при додаванні 75 % інактивованих сперміїв, цей показник знижується до 30 од. на 654,2 од. або 22,8 раза, при додаванні 90 % інактивованої сперми показник знижується з 684 од. до 10,8 од. на 673,4 од. у 63,35 раза. З підвищенням кількості інактивованих клітин абсолютний показник виживаності (Sa) знижується відповідно у: 4,75 (25 %), 9,66 (50 %), 22,8 (75 %), 63,35 (90 %) раза при розрідженні сперми 1:1 ($p<0,001$).

При розрідженні сперми 1:2 і додаванні 25 % інактивованих сперміїв показники зменшуються у порівнянні з контролем (638,4 од.) на 523,2 од. або у 5,54 раза, при додаванні 50 % інактивованих сперміїв цей показник знижується на 578,4 од. якщо зрівнювати з контролем або у 10,6 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв абсолютний показник виживаності знижується до 18 од. на 620,4 од. або у 35,4 раза, при додаванні 90 % інактивованих сперміїв абсолютний показник виживаності знижуються на 630 од. у 76 разів. Дані свідчать, що з підвищенням кількості інактивованих клітин знижується і абсолютний показник виживаності (Sa) відповідно у: 5,54 (25 %), 10,6 (50 %), 35,4 (75 %), 76 (90 %) раза при розрідженні сперми 1:2 ($p<0,001$).

Таблиця 1

Виживаність сперміїв кнурів у ГХЦ середовищі за температури зберігання 16-18 ºС з різним співвідношенням живих та інактивованих клітин

Ступінь розрідження сперми	Абсолютний показник виживаності сперміїв (Sa)								
	(Sa) (контроль)	При додав. 25 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 50 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 75 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 90 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1:1	684,20 ± 53,16	144,0 ± 11,22 ***	4,75	70,8 ± 10,47 a***	9,66	30,00 ± 4,24 a***	22,8	10,80 ± 1,34 a***	63,3
1:2	638,40 ± 55,43	115,2 ± 13,81 ***	5,54	60,0 ± 14,07 a***	10,6	18,00 ± 4,24 a***	35,4	8,40 ± 1,64 a***	76,0
1:3	592,80 ± 63,86	74,40 ± 9,85 ***	7,96	39,6 ± 2,68 a***	14,9	7,20 ± 1,34 a***	82,3	6,00 ± 0,00 a***	98,8

*Примітка. *** p<0,001-різниця достовірна порівняно з контролем; а - позначення значення, які мають достовірну різницю *p<0,05; **p<0,01; *** p<0,001 - порівняно з % відношенням інактивованих клітин.*

При розрідженні сперми 1:3 і додаванні 25 % інактивованих сперміїв показники зменшуються у порівнянні з контролем (592,8 од) на 517,6 од. або у 7,96 раза, при додаванні до дослідних зразків 50 % інактивованих сперміїв ці показники зменшуються на 552,4 од. або у 14,9 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв ці показники зменшуються на 584 од або у 82,3 раза, при додаванні 90 % інактивованих сперміїв показники зменшуються на 586 од. або у 98,8 раза. Дані свідчать, що з підвищенням кількості інактивованих сперміїв знижується і абсолютний показник виживаності (Sa) відповідно у 7,96 (25 %), 14,9 (50 %), 82,3 (75 %), 98,8 (90 %) раза (p<0,001).

Із отриманих даних ми бачимо, що ступінь розрідження сперми (порівняно з контролем) також як і підвищення інактивованих клітин негативно впливає на абсолютний показник виживаності: при одноразовому розрідженні сперміїв показник знижується у 4,75 раза при 25 % інактивованих клітин, при дворазовому розрідженні знижується у 5,54 раза, при триразовому ці показники знижуються у 7,96 раза.

При додаванні 50 % інактивованих сперміїв абсолютний показник виживаності становив відповідно: 9,66; 10,6; 14,9 раза (p<0,001).

При додаванні 75 % інактивованих клітин цей показник становив відповідно: 22,8; 35,4; 82,3 раза (p<0,001).

При додаванні 90 % інактивованих клітин цей показник становив відповідно: 63,3; 76; 98,8 раза (p<0,001).

Таблиця 2

Виживаність сперміїв кнурів у ГХЦ середовищі за температури зберігання 38 ºС з різним співвідношенням живих та інактивованих клітин

Ступінь розрідження сперми	Абсолютний показник виживаності сперміїв (Sa)								
	(Sa) (контроль)	При додав. 25 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 50 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 75 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 90 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1:1	27,5 ± 2,96	6,80 ± 0,37 ***	4,04	4,80 ± 0,51 a***	5,72	1,70 ± 0,32 a***	16,1	1,00 ± 0,17 a***	27,5
1:2	25,3 ± 2,52	5,30 ± 0,72 ***	4,77	3,10 ± 0,51 a***	8,16	1,60 ± 0,33 a***	15,8	0,90 ± 0,11 **	28,1
1:3	22,7 ± 2,22	4,30 ± 0,72 ***	5,27	2,40 ± 0,27 a***	9,45	1,50 ± 0,25 a***	15,1	0,70 ± 0,13 a***	32,4

*Примітка. *** p<0,001-різниця достовірна порівняно з контролем; а - позначення значення, які мають достовірну різницю *p<0,05; **p<0,01; *** p<0,001 - порівняно з % відношенням інактивованих клітин.*

Були проведені дослідження із використанням (ГХЦ) середовища при інкубації сперміїв за температури 38 ºС. Із даних таблиці 2 бачимо, що абсолютний показник виживаності (Sa-27,8 од.) при розрідженні сперміїв 1:1 та додаванні 25 % інактивованих клітин зменшується на 20,7 од. або у 4 рази у порівнянні з контролем, при наявності 50 % інактивованих сперміїв цей показник знижується на 22,7 од. або у 5,72 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв цей показник зменшився на 25,8 од. або у 16,1 раза, при додаванні 90 % інактивованих клітин показник зменшився на 26,5 од. або у 27,5 раза (p<0,001).

При розрідженні сперміїв 1:2 абсолютний показник виживаності (Sa-25,3 од.) при додаванні 25 % інактивованих клітин зменшується на 20 од. або 4,77 раза, при додаванні 50 % інактивованих клітин цей показник становив 22,7 од. або у 8,16 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв абсолютний показник зменшується на 23,7 од. або у 15,8 раза, при додаванні 90 % інактивованих сперміїв показник зменшується на 24,4 од. або у 28,1 раза. (p<0,001).

При розрідженні сперміїв 1:3 абсолютний показник виживаності (Sa-22,7) при додаванні 25 % інактивованих сперміїв зменшується на 18,4 од. або 5,27 раза у порівнянні з контролем, при додаванні 50 % інактивованих клітин абсолютний показник зменшується на 20,3 од., або у 9,45 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв (Sa) зменшується на 21,2 од., або у 15,1 раза, при додаванні 90 % інактивованих клітин цей показник зменшується на 22 од. або у 32,4 раза. (p<0,001).

Із отриманих даних, ми бачимо, що ступінь розрідження сперми (порівняно з контролем) також як і підвищення інактивованих клітин негативно впливає на абсолютний показник виживаності: при одноразовому розрідженні сперміїв показник знижується у 4 рази при 25 % інактивованих клітин, при дворазовому розрідженні знижується у 4,77 раза, при триразовому ці показники знижаються у 5,27

раза (p<0,001).

При додаванні 50 % інактивованих сперміїв абсолютний показник виживаності становив відповідно: 5,72; 8,16; 9,45 раза (p<0,001).

При додаванні 75 % інактивованих клітин цей показник становив відповідно: 16,1; 15,8; 15,1 раза (p<0,001).

При додаванні 90 % інактивованих клітин цей показник становив відповідно: 27,5; 28,1; 32,4 раза (p<0,001).

Таблиця 3

Виживаність сперміїв кнурів у ГХЦС середовищі за температури зберігання 16-18 ºС з різним співвідношенням живих та інактивованих клітин

Ступінь розрідження сперми	Абсолютний показник виживаності сперміїв (Sa)								
	(Sa) (контроль)	При додав. 25 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 50 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 75 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 90 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1:1	660,00 ± 51,72	132,0 ± 11,22 ***	5,00	55,20 ± 10,90 a***	11,95	24,00 ± 4,24 a***	27,5	8,40 ± 1,64 a***	78,5
1:2	611,60 ± 59,86	96,00 ± 11,02 ***	6,37	48,00 ± 10,39 a***	12,74	15,60 ± 3,42 a***	39,20	8,40 ± 1,64 a***	72,8
1:3	559,20 ± 61,67	70,80 ± 4,45 ***	7,89	36,00 ± 5,61 a***	15,53	9,60 ± 2,68 a***	58,25	6,0 ± 0,00 a***	93,2

*Примітка. *** p<0,001-різниця достовірна порівняно з контролем; а - позначення значення, які мають достовірну різницю *p<0,05; **p<0,01; *** p<0,001 - порівняно з % відношенням інактивованих клітин.*

При наступних дослідженнях за тією ж методикою при використанні (ГХЦС) середовища за температури зберігання 16-18 ºС, дані досліджень надані у таблиці 3 свідчать, що при розрідженні сперми 1:1 абсолютний показник виживаності сперміїв (Sa) зменшується у порівнянні з контролем (660 од), так при розрідженні сперми 1:1 і додаванні 25 % інактивованих сперміїв цей показник знижується на 528 од. або 5 раза, при цьому розрідженні, але при додаванні 50 % інактивованих сперміїв цей показник знижується з 660 од до 55,2 од. або на 604,8 од. у 11,9 раза, при цьому розрідженні, але додавання 75 % інактивованих сперміїв цей показник знижується до 24,0 од. на 636 од. або 27,5 раза, при додаванні 90 % інактивованої сперми показник знижується на 651,6 од. або у 78,5 раза. З підвищенням кількості інактивованих клітин абсолютний показник виживаності (Sa) знижується відповідно у: 5,00 (25 %), 11,9 (50 %), 27,5 (75 %), 78,5 (90 %) раза при розрідженні сперми 1:1 (p<0,001).

При розрідженні сперми 1:2 і додаванні 25 % інактивованих сперміїв показники зменшуються у порівнянні з контролем (611,6 од.) на 515 од. або у 6,37 раза, при додаванні 50 % інактивованих сперміїв абсолютний показник виживаності знижується до 15,6 од. на 596 од. або у 39,2 раза при додаванні 90 % інактивова-

них сперміїв абсолютний показник виживаності знижується на 603,2 од. у 72,8 раза. Дані свідчать, що з підвищенням кількості інактивованих клітин знижується і абсолютний показник виживаності (Sa) відповідно у : 6,37 (25 %), 12,7 (50 %), 39,2 (75 %), 72,8 (90 %) раза при розрідженні сперми 1:2 ($p<0,001$).

При розрідженні сперми 1:3 і додаванні 25 % інактивованих сперміїв показники зменшуються у порівнянні з контролем (559,2 од.) на 408,4 од. або 7,89 раза, при додаванні до дослідних зразків 50 % інактивованих сперміїв ці показники зменшуються на 523,2 од. або у 15,5 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв ці показники зменшуються на 549,6 од. або у 58,2 раза, при додаванні 90 % інактивованих сперміїв показники зменшуються на 553,2 од. або у 93,2 раза. Дані свідчать, що з підвищенням кількості інактивованих сперміїв знижується і абсолютний показник виживаності (Sa) відповідно у 7,89 (25 %), 15,5 (50 %), 58,2 (75 %), 93,2 (90 %) раза ($p<0,001$).

Із отриманих даних ми бачимо, що ступінь розрідження сперми (порівняно з контролем) також як і підвищення інактивованих клітин негативно впливає на абсолютний показник виживаності: при одноразовому розрідженні сперміїв показник знижується у 5 разів при 25 % інактивованих клітин, при дворазовому розрідженні знижується у 6,37 раза, при триразовому ці показники знижуються у 7,89 раза ($p<0,001$).

При додаванні 50 % інактивованих сперміїв абсолютний показник виживаності становив відповідно: 11,9; 12,7; 15,5 рази ($p<0,001$).

При додаванні 75 % інактивованих клітин цей показник становив відповідно: 27,5; 39,2; 58,2 раза ($p<0,001$).

При додаванні 90 % інактивованих клітин цей показник становив відповідно: 78,5; 72,8; 93,2 раза ($p<0,001$).

Як і в попередніх дослідженнях, використовували (ГХЦС) середовище при інкубації сперміїв за температури зберігання 38 ºС. Дані досліджень, які надані у таблиці 4 свідчать, що абсолютний показник виживаності (Sa-27,3) при розрідженні сперміїв 1:1 та додаванні 25 % інактивованих клітин зменшується на 20,7 од. або у 4,13 раза порівняно з контролем, при наявності 50 % інактивованих сперміїв цей показник знижується на 22,9 од. або у 6,20 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв цей показник зменшився на 25,0 од. або у 11,8 раза, при додаванні 90 % інактивованих клітин показник зменшився на 26,4 од. або у 30,3 раза ($p<0,001$).

При розрідженні сперміїв 1:2 абсолютний показник виживаності (Sa-25,3 од.) при додаванні 25 % інактивованих клітин зменшується на 21 од. або 5,88 раза, при додаванні 50 % інактивованих клітин цей показник становив 22,8 од. або у 10,1 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв абсолютний показник зменшується на 23,7 од. або у 15,8 раза, при додаванні 90 % інактивованих сперміїв показник зменшується на 24,5 од. або у 31,6 раза ($p<0,001$).

При розрідженні сперміїв 1:3 абсолютний показник виживаності (Sa-22,7) при додаванні 25 % інактивованих сперміїв зменшується на 19 од. або 6,13 раза порівняно з контролем, при додаванні 50 % інактивованих клітин абсолютний показник зменшується на 20,2 од. або у 11,3 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв (Sa) зменшується на 21,5 од., або у 18,9 раза, при додаванні 90 % інактивованих клітин цей показник зменшується на 22 од. або у 32,4 раза ($p<0,001$).

Із отриманих даних, ми бачимо, що ступінь розрідження сперми (порівняно з контролем), також як і підвищення інактивованих клітин негативно впливає на абсолютний показник виживаності: при одноразовому розрідженні сперміїв пока-

Таблиця 4

Виживаність сперміїв кнурів у ГХЦС середовищі за температури зберігання 38 ºС з різним співвідношенням живих та інактивованих клітин

Ступінь розрідження сперми	Абсолютний показник виживаності сперміїв (Sa)								
	(Sa) (контроль)	При додав. 25 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 50 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 75 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 90 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1:1	27,3 ± 3,10	6,60 ± 0,62 ***	4,13	4,40 ± 0,54 a***	6,20	2,30 ± 0,33 a***	13,6	0,90 ± 0,11 a***	30,3
1:2	25,3 ± 2,40	4,30 ± 0,45 ***	5,88	2,50 ± 0,17 a***	10,2	1,60 ± 0,32 a***	15,8	0,80 ± 0,13 a***	31,6
1:3	22,7 ± 2,03	3,70 ± 0,33 ***	6,13	2,00 ± 0,25 a***	11,3	1,20 ± 0,22 a***	19,9	0,70 ± 0,13 a***	32,4

*Примітка. *** p<0,001 - різниця достовірна порівняно з контролем; а - позначення значення, які мають достовірну різницю *p<0,05; **p<0,01; *** p<0,001 - порівняно з % відношенням інактивованих клітин.*

Таблиця 5

Виживаність сперміїв кнурів у ГХЦ-У середовищі за температури зберігання 16-18 ºС з різним співвідношенням живих та інактивованих клітин

Ступінь розрідження сперми	Абсолютний показник виживаності сперміїв (Sa)								
	(Sa) (контроль)	При додав. 25 % інак-тивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 50 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 75 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 90 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1:1	612,00 ± 59,15	124,8 ± 9,09 ***	4,93	57,60 ± 9,85 a***	10,62	21,60 ± 2,68 a***	28,3	8,40 ± 1,64 a***	72,8
1:2	591,60 ± 59,07	82,8 ± 4,45 ***	7,14	36,00 ± 2,12 a***	16,43	12,00 ± 0,00 a***	49,3	7,20 ± 1,34 a***	82,1
1:3	540,80 ± 55,21	58,8 ± 12,11 ***	9,19	25,2 ± 8,74 a***	21,4	7,20 ± 1,34 a***	75,1	6,00 ± 0,00 a***	90,1

*Примітка. *** p<0,001 - різниця достовірна порівняно з контролем; а - позначення значення, які мають достовірну різницю *p<0,05; **p<0,01; *** p<0,001 - порівняно з % відношенням інактивованих клітин.*

зник знижується у 4,13 раза при 25 % інактивованих клітин; при дворазовому розрідженні знижується у 5,88 раза, при триразовому ці показники знижаються у 6,13 раза ($p<0,001$).

Були проведені дослідження із використанням (ГХЦ-У) середовища при інкубації сперміїв за температури 16-18 ºС. Дані цих досліджень наведені у таблиці 5 і свідчать, що при використанні (ГХЦ-У) середовища за температури зберігання 16-18 ºС, при розрідженні сперми 1:1 абсолютний показник виживаності сперміїв (Sa) зменшується порівняно з контролем (612 од), так при розрідженні сперми 1:1 і додаванні 25 % інактивованих сперміїв цей показник знижується на 488 од. або 4,93 раза, при цьому розрідженні, але додаванні 50 % інактивованих сперміїв цей показник знижується з 612 од. до 57,6 од. або на 554,4 од. у 10,6 раза, при цьому розрідженні, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв цей показник знижується до 21,6 од. на 590,4 од. або 28,3 раза, при додаванні 90 % інактивованих сперміїв показник знижується з 612 од. до 8,4 од. на 603,6 од. у 72,8 раза. З підвищенням кількості інактивованих клітин абсолютний показник виживаності (Sa) знижується відповідно у: 4,93 (25 %), 10,6 (50 %), 28,3 (75 %), 72,8 (90 %) раза при розрідженні сперми 1:1 ($p<0,001$).

При розрідженні сперми 1:2 і додаванні 25 % інактивованих сперміїв показники зменшуються порівняно з контролем (591,6 од.) на 508,7 од. або у 7,14 раза, при додаванні 50 % інактивованих сперміїв цей показник знижується на 555,6 од. порівняно з контролем, або у 16,4 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв абсолютний показник виживаності знижується до 12 од. на 579,6 од. або у 49,3 раза, при додаванні 90 % інактивованих сперміїв абсолютний показник виживаності знижується на 583,6 од. у 82,1 раза. Дані свідчать, що з підвищенням кількості інактивованих клітин знижується і абсолютний показник виживаності (Sa) відповідно у 7,14 (25 %), 16,4 (50 %), 49,3 (75 %), 82,1 (90 %) раза при розрідженні сперми 1:2 ($p<0,001$).

При розрідженні сперми 1:3 і додаванні 25 % інактивованих сперміїв показники зменшуються порівняно з контролем (540,8 од.) на 482 од. або у 9,19 раза, при додаванні до дослідних зразків 50 % інактивованих сперміїв ці показники зменшуються на 515,6 од. або у 21,4 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв ці показники зменшуються на 533,6 од. або у 75,1 раза, при додаванні 90 % інактивованих сперміїв показники зменшуються на 534,8 од. або у 90,1 раза. Дані свідчать, що з підвищенням кількості інактивованих сперміїв знижується і абсолютний показник виживаності (Sa) відповідно у 9,19 (25 %), 21,4 (50 %), 75,1 (75 %), 90,1 (90 %) раза при розрідженні сперми 1:3 ($p<0,001$).

Із отриманих даних ми бачимо, що ступінь розрідження сперми (порівняно з контролем) також як і підвищення інактивованих клітин негативно впливає на абсолютний показник виживаності: при одноразовому розрідженні сперміїв показник знижується у 4,93 раза при 25 % інактивованих клітин, при дворазовому розрідженні знижується у 7,14 раза, при триразовому ці показники знижуються у 9,19 раза ($p<0,001$).

При додаванні 50 % інактивованих сперміїв абсолютний показник виживаності становив відповідно: 10,6; 16,4; 21,4 раза ($p<0,001$).

При додаванні 75 % інактивованих клітин цей показник становив відповідно: 28,3; 49,3; 75,1 раза ($p<0,001$).

При додаванні 90 % інактивованих клітин цей показник становив відповідно: 72,8; 82,1; 90,1 раза ($p<0,001$).

рідженні знижується у 5,15 раза, при триразовому ці показники знижаються у 6,22 раза ($p<0,001$).

При додаванні 50 % інактивованих сперміїв абсолютний показник виживаності становив відповідно: 8,8, 9,28; 9,47 раза ($p<0,001$).

При додаванні 75 % інактивованих клітин цей показник становив відповідно: 18,8; 19,3; 24,2 раза ($p<0,001$).

При додаванні 90 % інактивованих клітин цей показник становив відповідно: 37,7; 38,6; 43,6 раза ($p<0,001$).

Таким чином, у дослідах встановлено, що найвищі показники рухливості і виживаності були у контрольній пробі (без додавання інактивованих сперміїв) розрідженої середовищем ГХЦ (глюкозо-хелато-цитратним) абсолютний показник виживаності (Sa) за температури 16-18 ºС – (684 од.), 38 ºС був – (27,5 од.). При використанні ГХЦС (глюкозо-хелато-цитратно-сульфатного) середовища абсолютний показник виживаності (Sa) за температури 16-18 ºС (660 од.), 38 ºС був - (27,3 од.). При використанні ГХЦ-У (глюкозо-хелато-цитратно-удосконаленного) середовища абсолютний показник виживаності (Sa) за температури 16-18 ºС – (612 од.), 38 ºС був – (26,4 од.). Абсолютний показник виживаності був вищий у всіх середовищах при розрідженні сперми у співвідношенні 1:1, 1:2 у контролі.

У дослідах було встановлено, що при розрідженні сперми трьома середовищами абсолютний показник виживаності був вищий при використанні глюкозо-хелато-цитратного середовища (ГХЦ) із розрідженням сперми 1:1; 1:2. Результати дослідів трьох середовищ при різному розрідженні та абсолютному показнику виживаності мали недостовірні дані ($p>0,05$).

У результаті дослідів встановлено, токсичний вплив інактивованих сперміїв на виживаність живих. З підвищенням кількості інактивованих клітин зменшується час виживаності сперміїв.

Таким чином, виживаність полових клітин у спермі кнурів залежить від присутності в ній інактивованих клітин, чим вищий їх рівень, тим нижча рухливість та абсолютний показник виживаності.

При використанні методики, тобто додаванні 25 % та 50 % інактивованих клітин до зразків розбавленої сперми, методику можна використовувати як тест-підбір для середовищ.

Запропоновану методику моделювання виживаності сперміїв кнурів із додаванням інактивованих клітин можливо використовувати для підбору середовищ із більш захисними якостями.

Висновки:

1. Встановлено, що у дослідних середовищах: ГХЦ; ГХЦС; ГХЦ-У розріджених 1:1; 1:2 та 1:3 із додаванням 25 %, 50 %, 75 % та 90 % інактивованих сперміїв кнура, абсолютний показник виживаності залежить від присутності в ній інактивованих клітин, чим вищий їх рівень, тим нижча рухливість та абсолютний показник виживаності ($p<0,001$). Найвищі показники виживаності були після розрідження в середовищі ГХЦ.

2. Додавання 25 % та 50 % інактивованих клітин до розрідженої сперми та для наступної її оцінки за абсолютним показником виживаності може бути використано в якості методики (тест-підбір) для оцінки середовищ.

Бібліографічний список

1. Бугров А. Д. Влияние мертвых половых клеток на качество спермы быков и хряков / А. Д. Бугров, С. А. Сидашова // Зоотехния. – 1991. – № 12. – С. 50–53.

2. Shannon P. Curson B. Toxi effect and action of dead sperm on diluted, ovine semen / Shannon P. Curson // J. Dairy Sc. – 1972. – № 5. – P. 614–620.

3. Плишко Н. Т. Среда для разбавления и хранения спермы хряков / Н. Т. Плишко // Свиноводство. – 1996. – № 12 – С. 10.

4. Балашов Н. Г. Новая среда для сохранения спермы хряков / Н. Г. Балашов, М. В. Силаева // Труды Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии. – Т. 37. – М., 1970. – С. 97–101.

5. Сердюк С. И. Исследования по усовершенствованию хелатоновой среды / С. И. Сердюк, А. А. Беликов / Наук.-тех. бюл. / НИИЖ Л. и П. УССР. – Х., 1973. – № 8. – С. 45–48.

6. Інструкція із штучного осіменіння свиней / [відпов. за вип. Ю. Ф. Мельник]. – К. : Аграрна Наука, 2003. – 56 с.

7. Милованов В. К. Биология воспроизведения и искусственного осеменения животных / В. К. Милованов. – М. : Сельхозгиз, 1962. – С. 491–492.

8. Плохинский Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников // Н. А. Плохинский. – М. : Колос, 1969. – 359 с.

ВЛИЯНИЕ РАЗНОГО КОЛИЧЕСТВА ИНАКТИВИРОВАННЫХ СПЕРМИЕВ ХРЯКА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ ЖИВЫХ СПЕРМИЕВ В РАЗНЫХ СРЕДАХ

Бугров А. Д., Мартынюк И. Н., Институт животноводства НААН

Приведены данные о влиянии разного количества инактивированных спермиев хряка (25 %, 50 %, 75 %, 90 %) на выживаемость живых в разных средах: глюкозо-хелато-цитратной (ГХЦ), (Н. Т. Плишко); глюкозо-хелато-цитратно-сульфатной (ГХЦС), (Т. Н. Силаевой, И. И. Балашова); глюкозо-хелато-цитратной – усовершенствованной (ГХЦ-У), (С. И. Сердюка, А. А. Беликова) разбавленых в соотношении 1: 1, 1: 2, 1: 3. В результате опытов установлено, токсическое влияние инактивированных спермиев на выживаемость живых. С повышением количества инактивированных клеток уменьшается время выживаемости спермиев. Таким образом, выживаемость половых клеток в сперме хряков зависит от присутствия в ней инактивированных клеток, чем выше их уровень, тем ниже подвижность, и абсолютный показатель выживаемости. Наблюдалась общая закономерность, что в среде ГХЦ абсолютный показатель выживаемости выше по сравнению с другими средами. Предложенная методика при добавлении 25 % и 50 % инактивированных клеток, может использоваться как тест-подбор для оценки качества сред.

Ключевые слова: среды, спермии, инактивированные клетки.

VARIOUS INACTIVATED BOAR SPERM QUANTITY IMPACT ON SURVIVAL SPERMATOZOA RATE IN THE DIFFERENT MEDIA

Bugrov A., Martynyuk I., Institute of animal science, NAASU

This article presents the test data on the various inactivated boar sperm quantity impact on survival spermatozoa rate in the different media. The percentage constitutes 25 %, 50 %, 75 %, 90 %. The media improved formed glucose-helate-citron–acetate sulfate suspension. Suspension was diluted by 1:1, 1:2, 1:3 proportion. The test data proved the toxic impact of inactivated boar sperm on survival spermatozoa rate. Inactivated boar sperm cell quantity boost proved to debase survival spermatozoa rate. Thus survival boar spermatozoa cell rate depends on inactivated level motility analogue. Glucose-helate citron media survival rate proved to up other analogue. The proposed method may be used as test-control for media quality estimation.

Key words: boar sperm, survival spermatozoa rate, glucose-helate-citron – acetate sulfate suspension, toxic impact.

Таблиця 6

Виживаність сперміїв кнурів у ГХЦ-У середовищі за температури зберігання 38 ºС з різним співвідношенням живих та інактивованих клітин

Ступінь розрідження сперми	Абсолютний показник виживаності сперміїв (Sa)								
	(Sa) (контроль)	При додав. 25 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 50 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 75 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)	При додав. 90 % інактивованих сперміїв	У порівнянні з контролем (рази)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1:1	26,4 ± 2,59	4,70 ± 0,84 ***	5,61	3,0 ± 0,58 a***	8,8	1,40 ± 0,32 a***	18,8	0,70 ± 0,22 a***	37,7
1:2	23,2 ± 1,92	4,50 ± 0,30 ***	5,15	2,50 ± 0,25 a***	9,28	1,20 ± 0,28 a***	19,3	0,60 ± 0,11 a***	38,6
1:3	21,8 ± 2,15	3,50 ± 0,35 ***	6,22	2,30 ± 0,33 a***	9,47	0,90 ± 0,20 a***	24,2	0,50 ± 0,11 a***	43,6

*Примітка. *** p<0,001 - різниця достовірна порівняно з контролем; а - позначення значення, які мають достовірну різницю *p<0,05; **p<0,01; *** p<0,001 - порівняно з % відношенням інактивованих клітин.*

Із використанням середовища ГХЦ-У та даної методики, дослідження провели при інкубації сперміїв за температури зберігання 38 ºС. Дані цих досліджень наведені у таблиці 6 і свідчать, що абсолютний показник виживаності (Sa-26,4) при розрідженні сперміїв 1:1 та додаванні 25 % інактивованих клітин зменшується на 21,7 од. або у 5,61 раза порівняно з контролем, додаванні 50 % інактивованих клітин зменшується на 23,4 од. у 8,8 раза, при утриманні 75 % інактивованих сперміїв цей показник зменшився на 25 од. або у 18,8 раза, при додаванні 90 % інактивованих клітин показник зменшився на 25,7 од. або у 37,7 раза (p<0,001).

При розрідженні сперміїв 1:2 абсолютний показник виживаності (Sa-23,2 од.) при додаванні 25 % інактивованих клітин зменшується на 18,7 од. або 5,15 раза, при додаванні 50 % інактивованих клітин цей показник зменшився на 20,7 од. або у 9,28 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв абсолютний показник зменшується на 22 од. або у 19,3 раза, при додаванні 90 % інактивованих сперміїв показник зменшується на 22,6 од. або у 38,6 раза (p<0,001).

При розрідженні сперміїв 1:3 абсолютний показник виживаності (Sa-21,8) при додаванні 25 % інактивованих сперміїв зменшується на 18,3 од. або у 6,22 раза порівняно з контролем, при додаванні 50 % інактивованих клітин абсолютний показник зменшується на 19,5 од. або у 9,47 раза, при додаванні 75 % інактивованих сперміїв (Sa) зменшується на 20,9 од. або у 24,2 раза, при додаванні 90 % інактивованих клітин цей показник зменшується на 21,3 од. або у 43,6 раза (p<0,001).

Із отриманих даних, ми бачимо, що ступінь розрідження сперми (порівняно з контролем) також як і підвищення інактивованих клітин негативно впливає на абсолютний показник виживаності: при одноразовому розрідженні сперміїв показник знижується у 5,61 раза при 25 % інактивованих клітин, при дворазовому роз-