

2. Кинология /Г.И.Блохин. - Москва: Крипторий, 2001.- 112 с.
3. Клуб служебного собаководства.– Москва: ОСААФ СССР.–1986.– 156 с.
4. Х.Г. Ниманд, П.Б. Сутер, Болезни собак, практика ветеринарного врача. Москва: Аквариум, 2001. - 132 с.

ОСНОВНІ СПОСОБИ УТРИМАННЯ ТА РОЗВЕДЕННЯ СЛУЖБОВИХ СОБАК

Л.М.Остапенко, В.М.Ключка, Харківська державна зооветеринарна академія

У статті наведені різні способи утримання службових собак: квартирний, дворовий, вольєрний, боксів, польовий.

Показано, що правильно вибраний спосіб утримання, нормальні умови розташування службових собак є запорукою здоров'я і високої працездатності тварин.

Ключові слова: методи утримання, квартирний, дворовий, вольєрний, боксовий, польовий, службові собаки, залог здоров'я, працездатність.

UTILITY DOG MANAGEMENT SYSTEMS

L.Ostapenko, V.Klyotchka, Kharkov state veterinary academy

O.Brovko, the Institute of animal science, UAAS

This article highlights the experimental research results on the various utility dog management systems. The technique comprises domestic, outdoor, cage, field & cubical systems. The proper technique use & favorable habitat conditions proved to procure general health & labor productivity of the utility dogs.

Key words: management systems, domestic, outdoor, cage, field keeping, cubicle system, utility dogs, general health protection, labor productivity.

УДК 636.2:591.463.1

ЯКІСТЬ ТА ЗАПЛІДНЮВАЛЬНА ЗДАТНІСТЬ СПЕРМІЇВ БУГАЇВ ЗА ДІЇ АНТИОКСИДАНТІВ

Д.Д. Остапів

Інститут біології тварин УААН

Вивчали вплив відновленої форми глутатіону та аскорбінової кислоти, уведених до розріджувача еякулятів бугаїв, на фізіологічні та біохімічні показники, запліднювальну здатність сперміїв. Встановлено дозо-залежну дію антиоксидантів на фізіологічні та біохімічні показники сперміїв у свіжоотриманій та розмороженій спермі. Для збереження життєздатності, підвищення виживаності і запліднювальної здатності сперміїв у процесі підготовки сперми бугаїв до заморожування слід використовувати у розріджувачі аскорбінову кислоту і відновлену форму глутатіону у відношенні 0,35:2,5 мМ.

Ключові слова: бугай, еякулят, сперма, спермії, антиоксиданти, фізіологічні показники, запліднювальна здатність.

У процесі розбавлення, еквілібрації, заморожування і відтавання сперми, внаслідок структурних змін у статевих клітинах вивільняються і активуються мембранозв'язані ферменти, зростає інтенсивність окисних процесів, накопчуються сперміцидальні продукти. Вказані зміни знижують якість сперміїв, їх запліднювальну здатність і, в цілому, ефективність штучного осіменіння [1-3].

Зменшити негативний вплив факторів технологічної підготовки еякулятів бугаїв до кріоконсервації та розморожування можна шляхом додавання до розріджувачів сперми антиоксидантів. Так, результати літературних дослідження [5, 13-14] свідчать, що при використанні глутатіону та аскорбінової кислоти у складі розріджувачів еякулятів і середовищ розморожування сперми підвищується якість і запліднювальна здатність спермій. Позитивний результат зумовлений здатністю антиоксидантів неензиматично знищувати активні форми кисню, які генеруються в процесі нормального окисного метаболізму та внаслідок окиснення структурних компонентів клітин. Поряд із позитивним впливом вищезгаданих сполук на якість статевих клітин дослідники [10-12] встановили зміни в мембранах мітохондрій та зниження фізіологічних показників спермій за дії аскорбінової кислоти і глутатіону. Отже, використання антиоксидантів, як компонентів розріджувача сперми, вимагає детальнішого вивчення.

Метою роботи було вивчити вплив відновленої форми глутатіону і аскорбінової кислоти у розріджувачі еякулятів бугаїв на фізіологічні і біохімічні показники статевих клітин свіжоотриманої та розмороженої сперми, запліднювальну здатність спермій.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили в Інституті біології тварин УААН та Львівському підприємстві з племінної справи у тваринництві. Сперму отримували на штучну вагіну з режимом використання плідників - дуплетна садка два рази на тиждень. Свіжоотримані еякуляти оцінювали за об'ємом (мл), рухливістю спермій (активністю; бали), концентрацією (10^9 клітин/мл) та кількістю живих (%) [9] статевих клітин.

Вплив аскорбінової кислоти (АА) і відновленої форми глутатіону (Г-SH) на фізіологічні і біохімічні показники вивчали в еякуляті, розділеному на частини - контрольну (лактозо-жовтково-гліцериновий розріджувач; ЛЖГ-середовище) і дослідні - ЛЖГ-середовище з додаванням: АА (2,50; 5,0; 10,0 мМ); Г-SH (2,50; 5,0; 10,0 мМ) та поєднання АА+Г-SH (1,25+1,25; 1,25+2,50; 2,50+2,50; 5,0+5,0 та 10,0+10,0 мМ). Визначали у свіжоотриманій та розмороженій спермі виживання спермій (хв) при температурі 46,5 °С, після розбавлення 1:10 розріджувачем для заморожування сперми в облицьованих гранулах, і при температурі 38,0 °С [4], резистентність (тис), активність сукцинатдегідрогенази (СДГ; мкМ/хв*л) [8], цитохромоксидази (ЦХО; мкМ/хв*л)[7], дихальну активність – полярографічно (нг-атом $O/10^8$ спермій/хв), вміст малонового діальдегіду (МДА)[15]. Для штучного осіменіння корів використовували сперму бугаїв Контакт 1375 і Ринка 2919. Кожен еякулят розділяли на дві частини, контрольну (без антиоксидантів) і дослідну (з антиоксидантами). Ефективність доданих антиоксидантів у розріджувачі визначали обліком результатів штучного осіменіння корів-аналогів. Статистичний аналіз отриманих результатів проведено за Плохінським М.О. (1969).

Результати досліджень. Дослідженнями встановлено, що аскорбінова кислота і глутатіон позитивно впливають на життєздатність спермій. Так, додавання АА і Г-SH до розріджених еякулятів бугаїв збільшує кількість живих спермій протягом 30 хв інкубування і підвищує тривалість виживання. Висока збереженість спермій (33,2-47,8 %) проявляється при внесенні 2,50 мМ АА або Г-SH і їх поєднання – 1,25+1,25; 1,25+2,50; 2,50+2,50 мМ (рис. 1).

У свіжоотриманій спермі високе виживання статевих клітин (77,1 - 94,3 хв) забезпечується внесенням 2,50 мМ АА або 5,00 мМ Г-SH, чи їх сполучення, відповідно, 1,25+2,50 мМ (рис. 2). Більші дози вказаних антиоксидантів (10,0 мМ) негативно діють на життєздатність спермій.

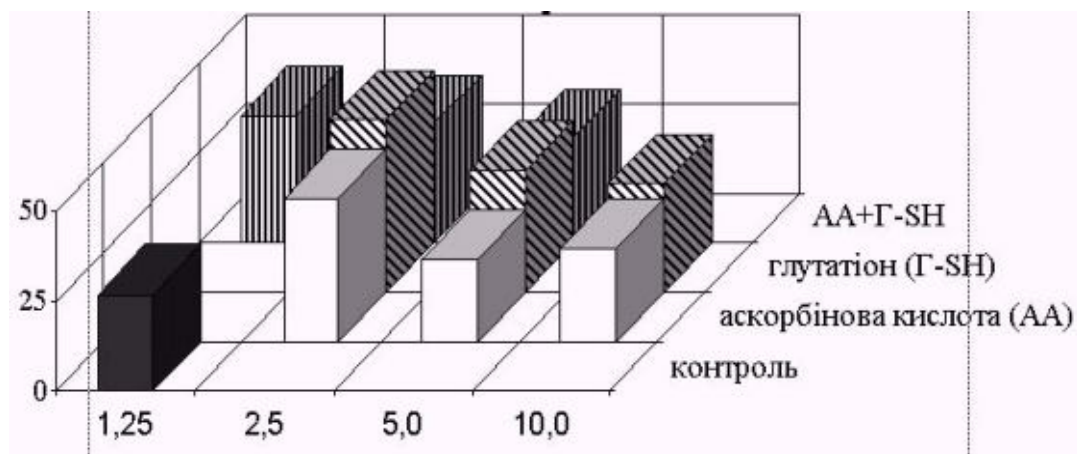


Рис. 1. Вплив антиоксидантів на збереженість спермій після 30 хв інкубування.

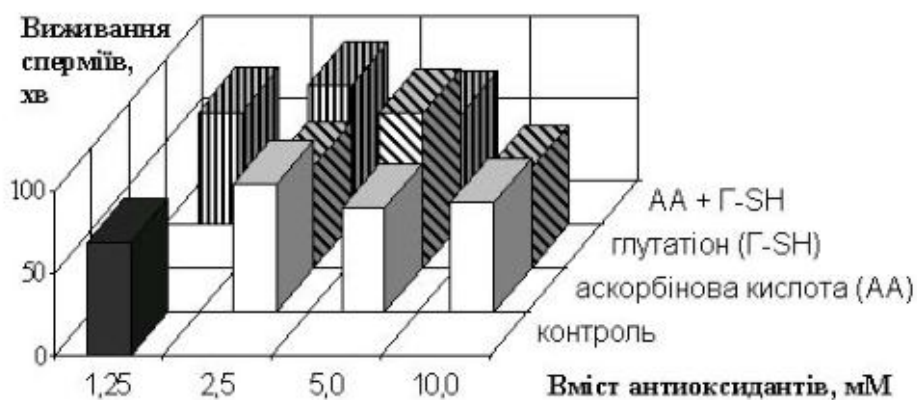


Рис. 2. Вплив антиоксидантів на виживання спермій (температура + 46,5 °C)

Дослідженням інтенсивності дихання статевих клітин і активності окисних ферментів виявлено, що зі збільшенням доз Г-SH (1,25; 2,50; 5,00 мМ), підвищується споживання кисню до 30,4-45,5 нг-атом О/ 10⁸ спермій/хв ($p < 0,001$; табл. 1).

1. Інтенсивність окисно-відновних процесів у розбавленій спермі з антиоксидантами

Частини еякуляту	Вміст доданих речовин мМ	Поглинання кисню, нг-атом О/10 ⁸ спермій/хв		Активність ферментів, мкМ/хв*л			
				СДГ		ЦХО	
		n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m
Контрольна	-	14	20,6±2,86	10	7,4±0,89	10	29,6±1,95
Дослідні: Г-SH	1,25	14	30,4±2,64*	10	13,0±0,56***	10	28,2±2,20*
	2,50	14	47,9±5,91***	10	17,0±0,40***	10	21,6±2,63*
	5,00	14	45,5±3,40***	10	19,9±1,11***	10	15,2±1,83***
AA	1,25	14	27,6±2,66	10	8,3±0,63	10	39,5±2,73*
	2,50	14	24,2±3,35	10	7,7±0,92	10	39,2±2,96*
	5,00	14	21,9±0,94	10	6,2±0,87	10	35,9±3,18
AA + Г-SH	1,25 + 2,50	14	28,7±3,15	10	16,2±0,79***	10	2,5±0,56***

Примітка. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ - різниця статистично вірогідна порівняно до контролю.

При цьому, стимулюється активність СДГ, яка при 1,25 мМ зростає на 75,6 %, 2,50 мМ – на 129 % і при 5,00 мМ – на 168,5 %, а ЦХО – знижується при вказаних дозах - відповідно на 4,9; 21,9 і 48,7 %.

Дія аскорбінової кислоти також залежить від внесеної дози. Мінімальний вміст її (1,25 мМ) стимулює дихання на 40,0 %, підвищує активність СДГ і ЦХО - відповідно на 12,1 % і 33,4 %. Збільшення дози (більше 2,50 мМ) знижує інтенсивність дихання, порівняно з максимальним значенням, на 14,0 – 26,0 %, активність СДГ - на 7,8-33,8 % і ЦХО - на 0,7-10,0 %. Сполучення обох досліджуваних компонентів (АА+Г-SH – 1,25+2,50 мМ) підвищує поглинання кисню на 39,3 %, активність СДГ- на 118,9 % і знижує ЦХО майже у 12 разів.

Різні дози АА і Г-SH в розріджувачі виявляють вплив на виживання спермій і активність ферментів розмороженої сперми (табл. 2).

2. Виживання спермій і активність окисних ферментів у розмороженій спермі при додаванні антиоксидантів ($M \pm m$)

$n = 19$

Доза анти-оксиданту, мМ	Виживання спермійв, хв	Активність ферментів у спермі, мкМ/хв*л	
		СДГ	ЦХО
Відновлена форма глутатіону			
Контроль	495,0 ± 7,07	0,7 ± 0,35	14,2 ± 1,80
Дослід: 1,25	500,0 ± 8,16	2,2 ± 0,78	9,1 ± 0,68*
2,50	500,0 ± 8,39	9,0 ± 1,15***	6,7 ± 0,74**
5,00	460,0 ± 40,81	17,0 ± 2,65***	3,5 ± 1,22***
Аскорбінова кислота			
Контроль	495,0 ± 7,07	2,2 ± 0,78	10,5 ± 0,68
Дослід: 1,25	470,0 ± 21,61	1,9 ± 1,22	13,4 ± 0,70**
2,50	380,0 ± 43,25	2,7 ± 1,06	13,8 ± 1,36
5,00	260,0 ± 16,30***	4,4 ± 1,65	20,0 ± 2,04***

Примітка. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ - різниця статистично вірогідна порівняно до контролю.

Однак, якщо максимальний вміст Г-SH (5,00 мМ) в ЛЖГ-середовищі знижує виживання спермій на 40 хв ($p > 0,05$), то підвищення дози АА з 1,25 мМ до 2,50 мМ та 5,00 мМ зумовлює зниження величини названого показника, відповідно, на 25,0; на 115,0 та на 235 хв ($p < 0,001$). При цьому, збільшення дози Г-SH стимулює активність СДГ відповідно в 3,1; 12,8 та 24,3 рази. Активність ЦХО знижується відповідно на 36,0 %; на 52,9 % та на 85,4 %. Аскорбінова кислота в дозі 1,25 мМ знижує активність СДГ на 13,7 %; а при 2,50 мМ та 5,00 мМ - підвищує на 22,7 % та на 100 %, відповідно. На активність ЦХО додавання АА в дозах 1,25 мМ та 2,50 мМ виявляє однаковий вплив (13,4 - 13,8 мкМ/хв*л), а у дозі 5,00 мМ – активність підвищує на 90,4 %.

Сполучення в розріджувачі АА+Г-SH (відношення 1,25:2,50 мМ) знижує активність СДГ на 21,3 %, ЦХО - на 27,6 %, резистентність та виживання спермій - відповідно на 44,0 % та на 5,5 %, підвищує вміст МДА на 22,7 %. При цьому, активність спермій як у контрольних, так і дослідних пробах не змінюється і становить 3,6 бала.

Зміна співвідношення АА+Г-SH в сторону зменшення дози першої (0,35: 2,50 мМ) забезпечує підвищення виживання спермій на 30,1 % ($p < 0,001$) і активності СДГ - на 11,5 %; але при цьому знижується ЦХО на 36,2 %. Значення інших досліджених показників не відрізняються і знаходяться на рівні: рухливість спермій - 3,8 бала, резистентність - 6,4-8,0 тис; вміст МДА - 10,2-10,8 нг/мл.

Наступне зменшення вмісту АА (відношення АА:Г-SH - 0,25:2,50 мМ) не впливає на фізіологічні і біохімічні показники статевих клітин.

При осіменінні корів і телиць спермою, з використанням антиоксидантів у пропорції АА+Г-SH - 0,35:2,50 мМ, заплідненість після першого осіменіння становила в різних господарствах 25,0-76,6 %; у контрольній групі тварин - 12,5 - 67,2 % (різниця - 9,4 - 13,3 %) (рис. 3).

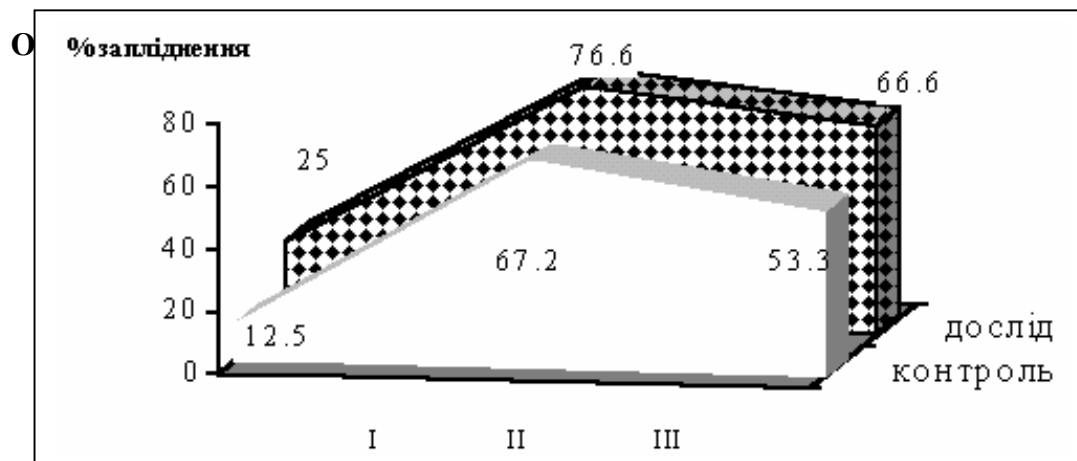


Рис. 3. Заплідненість, після першого осіменіння, корів і телиць спермою з використанням антиоксидантів. Господарства: I – “Грабово”; II - ім. Шевченка; III – “Побужанське”.

Висновки:

1. Аскорбінова кислота чи відновлена форма глутатіону, додані по 2,50 мМ або у сполученні (аскорбінова кислота : відновлена форма глутатіону) 1,25+2,50 мМ до свіжоотриманої розбавленої сперми, забезпечують у процесі інкубування за температури 46,5 °С показники виживання спермійів 77,1-94,3 хв та збереженості 33,2 - 48,7 %.

2. Дія відновленої форми глутатіону та аскорбінової кислоти на окисно-відновні процеси у сперміях свіжоотриманих та розморожених еякулятів визначається дозою антиоксиданту у розріджувачі сперми.

3. Співвідношення АА+Г-SH - 0,35 : 2,50 мМ забезпечує підвищення виживаності спермійів у розмороженій спермі на 90 хв (30,1 %; $p < 0,001$) і активності СДГ на 11,5 %.

4. Аскорбінова кислота та відновлена форма глутатіону, додані до розріджувача сперми у пропорції 0,35:2,50 мМ, підвищують запліднювальну здатність спермійів на 9,4 - 13,3 %.

Бібліографічний список

1. Криоконсервация спермы сельскохозяйственных животных /А. Д. Курбатов, Е.М. Платов, Н.В. Корбан и др.- Л-д: Агропромиздат, 1988. -256 с.
2. Наук В.А. Структура и функции спермиев сельскохозяйственных животных при криоконсервации. – Кишинев: Штиинца, 1991. – 198 с.
3. Осташко Ф.И. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей. - К.:Урожай, 1978. – 255 с.
4. Смирнов І.В. Штучне осіменіння сільськогосподарських тварин.–К.: Вища школа, 1976. – 256 с.
5. Столбов В.М., Римарова Л.Д. Влияние введения витаминов в разбавитель на качество спермы быков после замораживания-оттаивания //

Криоконсервация гамет и эмбрионов сельскохозяйственных животных. - 1983. - С. 54-57.

6. А.с. № 38513 СССР. Активирующая среда для размораживания спермы быка / Стоянов Т.К., Загорски Д.И., Тоньов А.П., Георгиев Г.Я., 86.01.15.

7. Чухрій Б.М., Клевець Л.О. До методики визначення активності окислювальних ферментів у спермі бугаїв // Розведення та штучне осіменіння великої рогатої худоби. – К., 1978. - Вип. 10. – С. 42-45.

8. Чухрій Б.М., Клевець Л.О., Остапів Д.Д. Колориметричний спосіб визначення активності сукцинатдегідрогенази в спермі бугаїв // Вісник аграрної науки. – 1995. - № 11. – С. 73-75.

9. Яблонский В.А. Некоторые показатели обмена веществ в сперме быка: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Львов, 1962. - 19 с.

10. Bianchi J., Rose R.C. Dehydroascorbic acid and cell membranes: possible disruptive effects // Toxicology. – 1986. - V.40. - P. 75–82.

11. Chen J.S., Sensini C., Barbetti M. Ascorbic acid induces spectrin reorganization in bull epididymal spermatozoa // Cell Biol. Toxicol. – 2000. – V.16, №2. - P. 77-82.

12. Nadroo G.A., Saxena V.B., Tripathi S.S. Effect of additives to citrate extender on preservation of bovine semen // Indian. Veter. J. -1988. - №. 2. –P. 174-175.

13. Slaweta R., Liaskowska T. The effect of glutathione on the motility and fertility of frozen sperm // Anim. Reprod. Sci. – 1987. - V.13, №4. - P. 249-253.

14. Slaweta R., Aksinto W., Koblanski J. Badania nad wpływem dodatku glutationu na jakość konserwowanego nasienia buhaja // Med. Weter. - 1986. - №8. - S. 498-500.

15. Tappel A.L., Zalkin H. Lipid peroxidation in isolated mitochondria // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – V. 80. –P. 326-332.

КАЧЕСТВО И ОПЛОДОТВОРЯЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ СПЕРМИЕВ БЫКОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ АНТИОКСИДАНТОВ

Д.Д. Остапів, Институт биологии животных УААН

Изучали влияние восстановленной формы глутатиона и аскорбиновой кислоты, добавленных в разбавитель эякулятов быков, на физиологические и биохимические показатели, оплодотворяющую способность спермиев. Установлено дозо-зависимое действие антиоксидантов на физиологические и биохимические показатели спермиев в свежеполученной и размороженной сперме. Для сохранения жизнеспособности, повышения выживания и оплодотворяющей способности спермиев в процессе подготовки спермы быков к замораживанию следует использовать в разбавителе аскорбиновую кислоту и восстановленную форму глутатиона в соотношении 0,35:2,5 мМ.

Ключевые слова: бык, эякулят, сперма, спермии, физиологические показатели, антиоксиданты, оплодотворяющая способность.

BULL SEMEN QUALITY & FERTILIZING CAPACITY BY ANTIOXIDANTS ADMINISTRATION

D. Ostapiv, the Institute of animal biology, UAAS

This article highlights the experimental research results on glutatyon & ascorbic acid impact on physiological, biological & chemical characteristics & fertilizing capacity of bull semen. The above-mentioned preparations were added to the semen dilution. The antioxidants proved to affect physiological, biological & chemical characteristics in freshly harvested & thawed semen. Ascorbic acid & glutatyon should

be added to semen dilution in 0,35:2,5 mM proportion. This correlation procures semen viability, survival rate & fertilizing capacity. The technique is applied by the bull semen preparation for freezing.

Key words: bull, ejaculate, sperm, spermatozoon, physiological characteristics, antioxidants, fertilizing capacity.

УДК 636.4:578.083:591.162

ВПЛИВ ЧАСУ ДОЗРІВАННЯ ЯЙЦЕКЛІТИН СВИНЕЙ *IN VITRO* НА ЗДАТНІСТЬ ДО ПАРТЕНОГЕНЕТИЧНОГО РОЗВИТКУ

Л.І. Остаповець¹

Інститут розведення і генетики тварин УААН

*У статті наведені результати вивчення впливу часу дозрівання *in vitro* ооцитів свиней на їх партеногенетичний розвиток. Встановлено, що збільшення часу культивування гамет до 48 год негативно впливає на їх дозрівання, що після активації проявляється зниженим рівнем формування партеногенонів.*

Ключові слова: свині, ооцит-кумулясні комплекси, *in vitro*, ядерне і цитоплазматичне дозрівання, партеногенез, ембріональний розвиток.

Встановлено, що після дозрівання *in vitro* або *in vivo* у більшості видів ссавців розвиток ооциту зупиняється на стадії метафази II мейозу. Цей процес регулюється цитоплазматичним фактором ініціації мейозу (MPF) та цитостатичним фактором (CSF) [0, 0]. При заплідненні активація ооциту індукується сперматозоїдом, проникнення якого ініціює коливання внутрішньоклітинного рівня іонів кальцію. Збільшення в цитоплазмі іонів кальцію впливає на активність MPF та CSF, що призводить до реініціації мейозу на стадії метафази II мейозу [0]. Використання штучних активаторів (етанол, іонофор кальцію, електростимуляція) також призводить до збільшення цитоплазматичного рівня іонів кальцію та активування яйцеклітин [0].

На здатність активованих яйцеклітин свиней до ембріонального розвитку, крім активуючого фактору, впливає і біологічна повноцінність самих гамет [0, 0]. Мейотичне дозрівання ооцитів свиней, яке проявляється морфологічно за екструзією першого полярного тільца, спостерігається в яйцеклітинах свиней вже після 24 годин культивування *in vitro*. Встановлено, що ооцити свиней, які дозрівали протягом 36 годин, після запліднення *in vitro* мали нижчий потенціал ембріонального розвитку, ніж після 44-годинного культивування [0], або партеногенетичного активування після 42 або 48 годин культивування [0]. Тому лише після 40 годин дозрівання ооцити набувають повноцінного цитоплазматичного дозрівання [0]. Загалом період ядерного дозрівання ооцитів свиней довший порівняно з ооцитами великої рогатої худоби [0] та коней [0]. Встановлено, що збільшення часу культивування (перезрівання) ооцитів свиней, порівняно з ооцитами корів, після їх активування *in vitro* негативно впливало на подальший ембріональний розвиток [0]. Більш тривалий період дозрівання *in vitro* ооцитів свиней до стадії метафази II мейозу більше за все викликає деструктивні зміни компонентів цитоскелету [0]. Тому пошук оптимального періоду культивування *in*

¹ Науковий керівник – канд. біол. наук С.І.Ковтун