



При фолікулярних кістах діаметр третинних фолікулів більший ніж при лютеїнових. Примордіальні та первинні фолликулы розміщуються в одиночку. Встречаються атретическіє тіла на різних стадіях розвитку і декількох фолликул в стадії атрезії.

Ключеві слова: свиноматки, яєчник, фолликулы (примордіальні, первинні, везикулярні (вторинні), фолликулярні та лютеїнові кисти.

HISTOLOGICAL SWAPS IN THE SOW OVARY DUE TO FOLLICLE AND LUTEIN CYSTS

Grebenyk N., Kharenko M., Sumy national agrarian university

This article presents the test data on histological swaps in sow ovary due to follicle and lutein cysts. Primordial follicle number proved to be abated in the cystic sow ovaries. The tertiary follicle diameter observed to be increased in comparison with yellow bodies by follicle cysts. Medium and top size follicles observed to be reduced. Primordial and initial follicles are located separately. Tertiary atretic bodies were found at the various developmental stages. Several follicles are at atresia stage.

Key words: sows, ovary primordial, initial, secondary, tertiary follicles, follicle and lutein cysts.

УДК 636.2:57.08:591.463.1

МОЖЛИВІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ НВЧ-ДІЕЛЕКТРОМЕТРІЇ ДЛЯ ОЦІНКИ ЯКОСТІ СВІЖООДЕРЖАНОГО ЕЯКУЛЯТУ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ

Рецензенти: д.-тор б. наук, професор Бугров О.Д.; канд. с.-г. наук Тихона Г.С.

Н.В. Древаль, В.Г. Колесніков

Інститут радіофізики та електроніки ім. О. Я. Усикова НАН України

С.Ю. Рубан

Українська академія аграрних наук

О.О. Чернецов

Інститут тваринництва УААН

Проведені на частоті $f = 36,5$ ГГц вимірювання дійсної частини (ϵ') комплексної діелектричної проникності (ϵ^*) еякулятів бугаїв-плідників, які дозволяють оцінити в реальному часі якість свіжоодержаної сперми, дають можливість застосовувати метод НВЧ-діелектрометрії в біотехнології репродукції великої рогатої худоби. Проведено якісний аналіз зміни гідратації сперми при дії жовткового та безжовткового кріопротекторних середовищ. Показано, що дійсна частина комплексної діелектричної проникності (ϵ') у довгохвильовій частині міліметрового діапазону радіохвиль має значимі відмінності в еякулятах як різних бугаїв, так і в різних еякулятах одного бугая.

Ключові слова: свіжоодержана сперма, метод НВЧ-діелектрометрії, кріопротекторні середовища, біотехнологія.

Збільшення обсягу м'ясо-молочної продукції та зниження витрат на утримання поголів'я великої рогатої худоби безпосередньо пов'язані з ефективністю процесу запліднення в біотехнології штучного осіменіння. Приблизний розрахунок фінансового резерву цієї проблеми для України, при підвищенні коефіцієнта ймовірності штучного запліднення (r) з першого разу від 0,6 до 0,7, який проводиться за допомогою шкали Фертикса з подальшою

оцінкою витрат при перестой ялових корів (при загальній кількості приблизно 1 млн. голів), становить, приблизно, 27 млн.грн на рік [1].

Запліднювальна здатність спермійів бугаїв-плідників при кріоконсервації визначається цілим рядом характеристик, серед яких головними є індивідуальна якість сперми, тип кріопротекторного середовища та технологія кріоконсервації [2-5]. Кріорезистентність спермійів, головним чином, визначається функціональним станом плазматичних мембран, у тому числі, їхньою пластичністю, станом ферментних систем [6], толерантністю до деформацій при фазових переходах лід-вода [7]. Компоненти кріопротекторних середовищ відіграють, з одного боку, позитивну роль, забезпечуючи фортифікацію мембранних структур клітин на етапах низькотемпературної обробки, з іншого боку, негативно впливають на функціонування спермійів після розморожування вже на етапах штучного осіменіння, являючи собою адсорбований на мембрані “шлак”, який визначає ефективність і якість запліднення яйцеклітини. Тому, додаткова інформація про якість еякуляту, яку можна отримати за допомогою методу *НВЧ*-діелектрометрії на основі аналізу гідратації спермійів за реальною частиною (ε') комплексної діелектричної проникності (ε^*), виявляється доречною і корисною.

Матеріали та методи досліджень. Об'єктом експерименту були еякуляти 4-х бугаїв-плідників різних садок. Морфологічні та фізіологічні характеристики спермійів оцінювали під світловим мікроскопом при збільшенні $\times 300$, концентрацію клітин визначали за допомогою фотоелектричного концентраційного колориметра КФК-2 (таблиця).

Характеристики спермійів бугаїв-плідників

№ садки	Бугаї - плідники	Об'єм еякуляту, мл	Концентрація спермійів, млрд/мл	Активність, балів
2	“Цезар”	7	$1,2 \pm 0,2$	8 ± 1
1	“Козак”	6	$1,0 \pm 0,2$	7 ± 1
3	“Цезар”	3	$1,0 \pm 0,2$	8 ± 1
1	“Дункан”	12	$0,3 \pm 0,1$	$1 \pm 0,5$
1	“Гром”	5	$0,7 \pm 0,15$	6 ± 1

Еякулят кожного бугая-плідника розливали мікродозатором $V = 100$ мкл у комірки імунологічного планшету. При регулярному перемішуванні додавали, відповідно до Харківської технології кріоконсервації сперми [8], кріопротекторні середовища - жовткове ($V_{\text{жов.}} = 100$ мкл на $V_{\text{еякул.}} = 100$ мкл) та безжовткове ($V_{\text{безжов.}} = 500$ мкл на $V_{\text{еякул.}} = 100$ мкл). Вимірювання параметрів гідратації еякуляту проводилося при $t = (20 \div 22)^\circ\text{C}$ в умовах максимальної життєдіяльності клітин методом *НВЧ*(надвисокочастотної)-діелектрометрії в області дисперсії діелектричної проникності вільної води [9] на довжині хвилі $\lambda = 8,22$ мм [10]; відносна точність вимірювання ε' становила 1 %. Зміни інтегральної гідратації макромолекулярних структур мембрани спермійів, включають як звільнення або зв'язування молекул води з цими структурами, так і перехід одного типу зв'язаної води в іншій, що є наслідком конформаційних перетворень макромолекул під впливом різних фізико-хімічних чинників [11-12]. У свою чергу, білки мембрани, які перебувають у тісному зв'язку з білками спермальної плазми, також визначають стан рівня гідратації та значення діелектричної проникності індивідуальних форм.



Результати досліджень. Під час виконання експерименту було показано, що нативні еякуляти бугаїв-плідників з різною активністю та концентрацією спермійів відрізняються за параметром ε' (рис. 1).

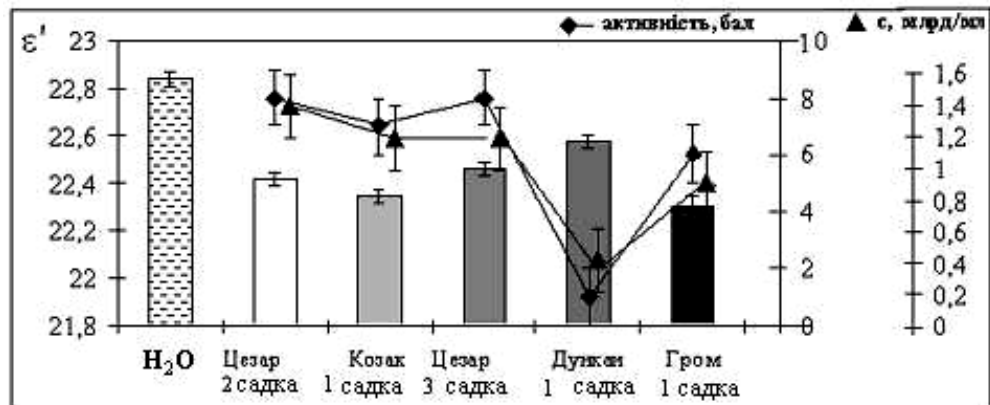


Рис. 1. Індивідуальні значення ε' , активність та концентрація спермійів еякулятів бугаїв-плідників.

Коефіцієнт кореляції (r) між ε' та активністю спермійів становив $r = -0,63$; між ε' та концентрацією спермійів $r = -0,5$.

З метою тестування життєздатності спермійів на етапах їх підготовки до низькотемпературного оброблення було досліджено гідратацію еякулятів у присутності кріопротекторних середовищ, які традиційно використовують для фортифікації плазматичної мембрани клітин. При додаванні жовткового кріопротекторного середовища у всіх досліджуваних зразках сперми показник ε' рівномірно знижувався, що свідчило про збільшення кількості зв'язаної води на макромолекулах мембрани спермійів, а також, імовірно, про підвищення кріорезистентності, що є наслідком взаємодії компонентів кріопротекторного середовища зі структурами мембрани (рис. 2).

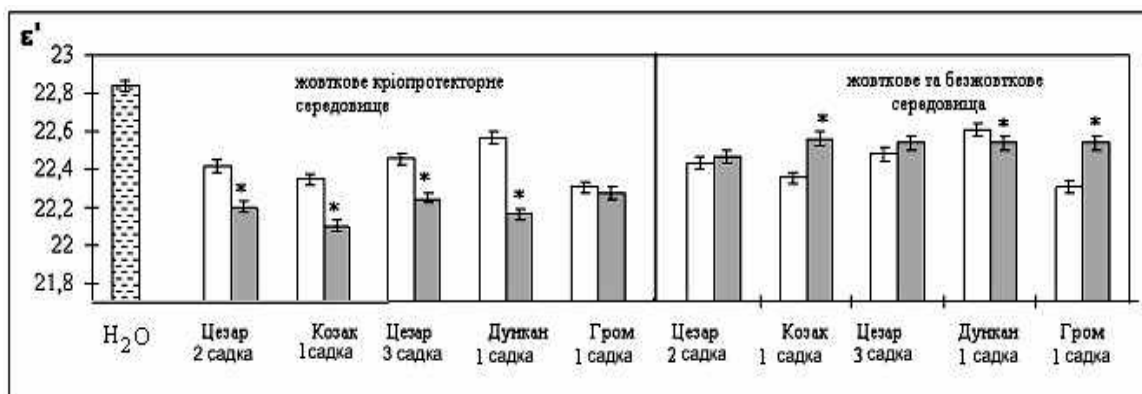


Рис. 2. Індивідуальні значення ε' сперми бугаїв-плідників у контрольній групі зразків (білі стовпчики) і при внесенні жовткового (сірі стовпчики, $p < 0,001$) та жовткового з безжовтковим (сірі стовпчики, $p < 0,05$) кріопротекторних середовищ.

Фосфоліпідна бі-шарова структура мембрани спермійів та вбудовані білкові молекули першочергово визначають механізми їх взаємодії з компонентами кріопротекторних середовищ [4]. Так у випадку з жовтковим середовищем,



фосфоліпіди та ліпопротеїни, які входять до його складу, за рахунок гідрофобних, електростатичних взаємодій адсорбуються та інкорпорується клітинною мембраною та сприяють фортифікації мембран. При збільшенні кількості макромолекул, що зв'язують воду на поверхні мембрани спермійв, збільшується гідратація, яка реєструється за параметром ε' .

При внесенні до еякуляту з жовтковим кріопротекторним середовищем безжовткового, згідно з Харківською технологією кріоконсервації, спостерігали збільшення кількості вільної води, що супроводжувалося зменшенням гідратного оточення мембранних структур спермійв, та в цілому, до вирівнювання значень ε' для всіх зразків.

Висновки:

1. На основі отриманих результатів показано, що дійсна частина комплексної діелектричної проникності (ε') у довгохвильовій частині міліметрового діапазону радіохвиль має значимі відмінності в еякулятах, як різних бугаїв-плідників, так і в еякулятах одного бугая різного взяття.

2. Метод НВЧ-діелектрометрії може бути впроваджений в технологію контролю якості спермодоз бугаїв-плідників при штучному осіменінні, особливо, з огляду на те, що для аналізу параметрів гідратації необхідно всього $V = 10$ мкл еякуляту, що становить 0,3-0,5 % від загального його об'єму, з мінімальною затратою часу (1,0 хв на 1 спермодозу).

Бібліографічний список

1. Саблук П. Т. Економічний і соціальний стан аграрного сектора України / П. Т. Саблук, О. А. Бугуцький // Інститут аграрної економіки УААН.- 1997.- 372 с.
2. Осташко Ф. И. Дифференциальная сканирующая калориметрия как метод изучения криповреждения спермиев сельскохозяйственных животных / Ф. И. Осташко, В. И. Сидоров, А. И. Гасан // Научно-технический бюллетень, № 65 / ИТ УААН.-1994.- С. 24 - 25.
3. Осташко Ф. И. Микропроцессорный способ определения качества спермы / Ф. И. Осташко, М. П. Павленко, Т. А. Стрелова // Новое в методах зоотехнических исследований.-1992. –Ч. 1.- С. 127-130.
4. Осташко Ф. И. Биотехнология воспроизведения крупного рогатого скота / Федор Иванович Осташко.- К.: Аграрна наука, 1995.- 183 с.
5. Іванченко М. І. Розроблення методів підвищення відтворювальної здатності бугаїв-плідників на основі використання ехінацеї пурпурової: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с/г наук / М. І. Іванченко.- Київ, Чубинське, 1998 –18 с.
6. How Membranes Shape Protein Structure / S. White, A. Ladokhin, S. Jayasinghe [and others] // J. Biol. Chem.- 2001.- Vol. 276, № 35.- P. 32395 - 32398.
7. Осташко Ф. И. Температурні градієнти і термодинамічні процеси в біологічних системах / Ф. И. Осташко, В. Ф. Осташко // Українська Академія аграрних наук.- 2004.- С. 13 - 27.
8. Осташко Ф. І. Харківська технологія асептичного узяття й кріоконсервації сперми бугаїв – плідників: [методичні рекомендації] / Федір Іванович Осташко.- Харків, 1990.- 25 с.
9. Ахадов Я. Ю. Диэлектрические свойства чистых жидкостей / Ахадов Я. Ю.- М.: Издательство стандартов,- 1972.- 412 с.



10. Метод оценки электромагнитного отклика биологической системы при воздействии лазерного излучения / В. Г. Колесников, Н. В. Древаль, Ю. Е. Каменев [и др.] // Физика живого.- 2008.- Т.16, №2.- С. 70-77.

11. Dreval N. Estimation the state of water components of cells suspension at the analysis of cellular signaling in human sperms / N. Dreval // Horizons in hydrogen bond research: internat.conf., 16–21 September: conf. proc.-Berlin, Germany, 2003.-8.-P.12.

12. Древаль Н. В. Анализ молекулярных механизмов действия экстракта эхинацеи пурпурной на клетки крови для создания новых биотехнологий / Н. В. Древаль, Т. Ю. Щеголева, В. Г. Колесников // С эхинацеей в третье тысячелетие: Междунар. научная конференция: тезисы докл.- Полтава, 2003.- С. 168 - 172.

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА КВЧ-ДИЭЛЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА СВЕЖЕПОЛУЧЕННОГО ЭЯКУЛЯТА БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Древаль Н. В., Колесников В. Г., Институт радиофизики и электроники им. А.Я. Усикова НАН Украины; Рубан С. Ю., Украинская академия аграрных наук; Чернецов О. А., Институт животноводства УААН

Проведенные на частоте $f = 36,5$ ГГц измерения действительной части (ϵ') комплексной диэлектрической проницаемости (ϵ^*) эякулятов быков-производителей, позволяющие оценить в реальном времени качество свежеполученной спермы, позволяют использовать метод КВЧ-диэлектromетрии в биотехнологии разведения крупного рогатого скота. Проведен качественный анализ изменения гидратации спермы при действии желточной и безжелточной криопротекторных сред. Показано, что действительная часть комплексной диэлектрической проницаемости (ϵ') в длинноволновой части миллиметрового диапазона радиоволн имеет значимые отличия как между эякулятами разных быков, так и между эякулятами одного быка.

Ключевые слова: свежеполученная сперма, метод КВЧ-диэлектromетрии, криопротекторные среды, биотехнология.

AVAILABILITY OF EHF-DIELECTROMETRY METHOD TO EVALUATE THE BOVINE FRESH-COLLECTED SEMEN

Dreval N.V., Kolesnikov V.G., Usikov's Institute of Radiophysics and Electronics of National Academy of Science of Ukraine; Ruban S.Y., Ukrainian Academy of Agrarian Sciences; Chernetsov O.A., Institute of Animal Science of Ukrainian Academy of Agrarian Sciences

The measurements of real part (ϵ') of complex permittivity (ϵ^*) of bovine ejaculates have been carried out at frequency $f = 36,5$ GHz. It is opportunity to evaluate quality of fresh-collected semen in real time and to apply the EHF-dielectrometry method in biotechnology of bovine breeding. Qualitative analysis of bovine semen hydrate change has been realized under the influence of both yolk and without yolk cryoresistive mediums.

Key words: fresh-collected semen, EHF-dielectrometry method, cryoresistive mediums, biotechnology.