

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ХОЛІН-ХЛОРИДУ В РОЗРІДЖУВАЧІ СПЕРМИ БУГАЯ

І. М. Яремчук, с. н. с., к. с.-г. н., *С. В. Горчин*, к. с.-г. н., *Д. Д. Остапів*, д. с.-г. н., *М. М. Шаран*, д. с.-г. н.
inenbiol@mail.lviv.ua

Інститут біології тварин НААН

Постановка проблеми. При надшвидкому охолодженні статевих клітин утворюється внутрішньоклітинний дрібноструктурний лід. Якщо кристали льоду перевищують діаметр 0,5 мікрон вони ушкоджують і руйнують мембрани, знижують фізіологічні характеристики і запліднювальну здатність спермій. Для усунення негативного впливу наднизьких температур у склад середовищ розрідження додають кріопротектори та сполуки, зокрема, гліцерин та лактозу, які запобігають утворенню кристалів льоду великих розмірів. Однак, при розбавленні і заморожуванні еякулятів, виникає ще одна проблема — вплив на статеві клітини гіперконцентрованих розчинів кріопротекторів у складі розріджувачів. Зміна осмотичного тиску в середовищі розрідження і заморожування сперми призводить до руйнування та загибелі спермій.

Для створення високоефективних і простих у реалізації способів кріоконсервування гамет, які б відповідали сучасним вимогам виробництва і забезпечували високу збереженість репродуктивних клітин, в існуючі розріджувачі сперми додають різні композиції кріопротекторів з речовинами, в тому числі й біологічно активними, які мають мембраностабілізуючу дію.

У зв'язку з цим, апробовано використання речовин, які можуть покращувати властивості кріопротектора гліцерину шляхом включення метильних груп у його молекулу. Зокрема це стосується метилвмісних сумішей речовин, таких як холіни, зокрема холін-хлорид, який є однією з фракцій лецитину та виконує функцію метилуючого агенту.

Мета досліджень — вивчити вплив холін-хлориду у складі розріджувача на якість спермій.

Для досліджень від бугаїв отримували еякуляти на штучну вагіну з режимом використання плідників дуплетна садка два рази на тиждень, через дві доби. Еякуляти оцінювали за об'ємом (мл), густотою і активністю (рухливістю) спермій (%) під мікроскопом (в роздавленій краплі). Концентрацію спермій у еякуляті (10^9 /мл) визначали за допомогою фотометра SDM5. Аналіз динамічних показників спермій нативної і розбавленої сперми проводили під мікроскопом з використанням відеокамери, комп'ютера і програмного забезпечення SpermVision. Виживання статевих клітин визначали при інкубуванні розріджених еякулятів за температури 2–4 °С. Для досліджень використовували еякуляти таких фізіологічних характеристик: активність спермій — більше 8 балів, концентрація — більше $0,7 \times 10^9$ спермій/мл і кількість живих статевих клітин більше 80%. Кожен еякулят ділили на 4 частин. Одну частину еякуляту розбавляли лактозо-жовтково-гліцеринним середовищем (ЛЖГР; контрольна група) і три дослідні групи — ЛЖГР з додаванням холін-хлориду в концентраціях, відповідно, 1,5; 3,0 і 6,0 %.

Встановлено, що додавання в розріджувач еякулятів холін-хлориду позитивно впливає на виживання спермій. Однак, сила впливу на фізіологічні характеристики статевих клітин залежить від концентрації доданої речовини. Зокрема, при розбавленні еякулятів лактозо-жовтково-гліцеринним розріджувачем і зберіганні сперми при 2–4 °С виживання статевих клітин становить 94,5 годин, а з додаванням холін хлориду в концентрації 1,5 і 3,0 % величина показника зростає до 97 і 96 годин відповідно. При більш високій концентрації холін-хлориду виявлено різке зниження активності, виживання та динамічних характеристик спермій. Ймовірно, наявність метильних груп у молекулі холін-хлориду зумовлює гідрофобний характер взаємодії з біомакромолекулами, що очевидно, забезпечує реалізацію захисних властивостей холіну й підвищує виживання спермій.

Додавання до складу розріджувача еякулятів бугаїв холін-хлориду у низьких концентраціях покращує обмінні процеси й збереженість мембран статевих клітин, що проявляється підвищенням фізіологічних характеристик спермій — виживання. Введення у середовище для розрідження еякулятів холін-хлориду дозволяє посилити протонно-акцепторну здатність гідроксильних груп гліцерину та збільшити його захисні властивості.