

УДК 636.2:082.453.5:543.02.062

ІОНИ ЛУЖНИХ МЕТАЛІВ ТА ПОКАЗНИКИ ЯКОСТІ НАТИВНОЇ І ДЕКОНСЕРВОВАНОЇ СПЕРМИ

Г. В. Максимюк

hanna.maksymjuk@gmail.com

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького,
вул. Пекарська 69, м. Львів, 79010, Україна

Дослідження особливостей показників концентрації K^+ у спермі бугаїв різних порід 2–10-річного віку вказують на її зв'язок з показниками життєздатності сперматозоїдів нативної і деконсервованої сперми.

Нами проаналізовано результати досліджень у трьох дослідних групах бугаїв, статеві органи яких виділяли сперму з низькою (17...24 мМ), середньою (36...43 мМ) й високою (60...69 мМ) концентрацією K^+ . За 3 роки технології держплемпідприємства отримали й оцінили у цих групах 568, 523, 522 нативні та 510, 425, 396 деконсервовані еякуляти високої й низької якості. Концентрація K^+ у спермальній плазмі (15...28...47 мМ) та сперматозоїдах (6...11...16 мМ) мала індивідуально константні, контроверзно низькі, середні й високі величини. У групі СКК виявлено найменшу кількість нативних еякулятів низької якості — 10 %, у групах НКК (17 %) і ВКК (24 %) — в 1,7–2,4 рази більшу, ніж у групі СКК. Внаслідок впливу умов етапів розрідження та еквілібрації на сперматозоїди, показник рухливості статевих клітин становив 7–8 балів. Після деконсервації найменше еякулятів низької якості (рухливість сперматозоїдів менша, ніж 3 бали) було в групі СКК (17 %); в НКК і ВКК — 35 % і 41 %. Вибірковка у групах відповідно склала 98, 184 і 214 еякуляти.

Результати досліджень можуть сприяти розкриттю механізму захисного і/або шкідливого впливу кріопротекторів на сперматозоїди та пошуку регуляторів функціональної активності іонотранспортувальних систем — ефекторів нового покоління.

Ключові слова: БУГАЇ, СПЕРМАЛЬНА ПЛАЗМА, СПЕРМАТОЗОЇДИ, ГОМЕОСТАЗ ІОНІВ, ЕЯКУЛЯТИ

ALKALI METAL IONS AND QUALITY PARAMETERS OF NATIVE AND THAWED SEMEN

H. V. Maksymyuk

hanna.maksymjuk@gmail.com

Lviv National Medical University named after Danylo Galician,
Pekarska st., 69, Lviv, 79010, Ukraine

The research results aim to clarify the characteristics of relationship between Ca^{2+} , K^+ , Na^+ concentration parameters in semen plasma, spermatozoa and their ratios in the bull semen of different breeds and age with quality parameters of native and thawed sperm.

Over 9 years we received and evaluated 230 samples of sperm out of three research groups of bulls. We discovered that high and low semen quality of ejaculates has individually constant, opposite parameters of low (17...24 мМ), medium (36...43 мМ) and high (60...69 мМ) K^+ concentration.

Over 3 years the technologists got 568, 523, 522 native and 470, 339, 308 thawed high quality ejaculates out of three bulls from three research groups (MCK, LCK, HCK) of black and white Holstein breed. In the MCK group we found the lowest percentage of native non-diluted ejaculates of lower quality — 10 %; in LCK and HCK groups the number is 1.7–2.4 times larger than in MCK. After acting with staged dilution on sperm and equilibration of semen the average of their motility was 7–8 points.

In the thawed sperm of MCK group the amount of ejaculates, where sperm motility was less than 3 points, accounted for 17 %; in LCK and HCK groups — 35 % and 41 % respectively. 98, 184 and 214 ejaculates were rejected in the research groups. This suggests that the K^+ concentration in spermal plasma and sperm ejaculates of different breeds of bulls, along 2–10 years has individually constant, but opposite parameters. The least number of poor quality ejaculates was found in the MCK group.

The research results could be an important argument for in-depth understanding of transmembrane homeostasis changes of ions in inorganic molecules and organic compounds in the open and closed systems

such as «environment-cell»; for disclosing peculiarities of the protective influence of cryoprotectants on sperm; search for the controls on functional activity of ion transportation systems — the effectors of new generation.

Key words: BULLS, SEMEN PLASMA, SPERMATOOZOA, HOMEOSTASIS OF IONS, EJACULATES.

ИОНЫ ЩЕЛОЧНЫХ МЕТАЛЛОВ И ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА НАТИВНОЙ И ДЕКОНСЕРВИРОВАННОЙ СПЕРМЫ

А. В. Максимюк

hanna.maksymjuk@gmail.com

Львовський національний медичинський університет ім. Данила Галицького,
ул. Пекарська, 69, м. Львов, 79010, Україна

Изучение особенностей концентрации K^+ в сперме быков 2–10-летнего возраста разных пород указывают на её связь с показателями жизнеспособности сперматозоидов нативной и деконсервированной спермы.

Нами проанализированы результаты в трёх опытных группах быков, половые органы которых выделяли сперму с низкой (17...24 мМ), средней (36...43 мМ) и высокой (60...69 мМ) концентрацией K^+ . За 3 года технологи госплемпредприятия получили и оценили 568, 523, 522 нативные и 510, 425, 396 деконсервированные эякулята высокого и низкого качества. Концентрация K^+ их спермальной плазмы (15...28...47 мМ) и сперматозоидов (6...11...16 мМ) имела индивидуально константные, контроверзно низкие, средние и высокие величины. Наименьшее количество (10 %) нативных эякулятов низкого качества обнаружили в группе СКК, в группах НКК (17 %) и ВКК (24 %) — в 1,7–2,4 раза больше, чем в группе СКК. В следствие разжижения и эквilibрации спермы подвижность половых клеток составила 7–8 баллов. После действия условий этапа деконсервации количество эякулятов низкого качества (подвижность сперматозоидов — меньше чем 3 балла) в группе СКК составила 17 %; в НКК и ВКК — 35 % и 41 %. Сумма их брака в группах — соответственно, 98, 184 и 214 эякулята.

Данные исследований могут способствовать раскрытию механизма защитного и/или вредоносного влияния криопротекторов на сперматозоиды и поиска регуляторов функциональной активности ионотранспортных систем — эффекторов нового поколения.

Ключевые слова: БЫКИ, СПЕРМАЛЬНАЯ ПЛАЗМА, СПЕРМАТОЗОИДЫ, ГОМЕОСТАЗ ИОНОВ, ЭЯКУЛЯТЫ

Немає сумніву у тому, що гомеостаз іонів лужних металів такої відкритої системи, якою є нерозріджена, свіжоотримана сперма плідників, тісно пов'язаний із показниками якості сперматозоїдів деконсервованих спермодоз. Сформований паренхіматозною тканиною статевих органів (яєчко, придаток і придаткові залози) первинний рівноважний стан іонів спрямований на тривале збереження функціональної повноцінності сперматозоїдів за можливої шкідливої дії умов довколишнього середовища [1, 2, 3]. Однак щодо ступеня захисного впливу гомеостазу іонів на показники якості сперматозоїдів нативної і кріоконсервованої сперми сучасна наука ще не знайшла однозначної відповіді [4–11]. Тому метою роботи є з'ясування особливостей концентрації Ca^{2+} , K^+ , Na^+ у спермальній

плазмі, сперматозоїдах та її співвідношень між різно- ($Na^+ : Ca^{2+}$, $K^+ : Ca^{2+}$, $Na^+ : K^+$) і одноіменними ($Ca^{2+} : Ca^{2+}$, $K^+ : K^+$, $Na^+ : Na^+$) парами іонів у спермі низької і високої якості, бугаїв голштинської чорно-рябої породи за нормалізації, стабілізації й згасання функціональної діяльності органів їх статевої системи.

Матеріали і методи

Досліджували особливості концентрації Ca^{2+} , K^+ , Na^+ в еякулятах високої й низької якості, які отримували від бугаїв голштинської чорно-рябої породи 2–10-річного віку ($n=9$). Перед взяттям сперми (для стимуляції статевої активності) бугаїв вигулювали 10–15 хв., робили масаж яєчок і декілька хвилин

витримували перед станком з манекеном. Від одного бугая впродовж семи діб отримували 2–4 дуплетні еякуляти в'язкої консистенції, молочно-білого кольору без сторонніх домішок (кров, гній, сеча). Другий еякулят отримували через 10–15 хв. після першого. Інтервал статевого спокою бугаїв становив 2–3 доби.

Перший і другий еякуляти отримували у штучну вагіну. Змішували їх і зберігали у повітряному термостаті (шафі) за 35...37°C. Дуплетні еякуляти досліджували не пізніше, ніж за 30 хв після еякуляції. Для досліджень брали зразки, у яких ліміт концентрації сперматозоїдів становив 0,1–2,3 млрд/см³ сперми; рухливості — 0–10 балів.

Отримані еякуляти ділили на спермальну плазму та сперматозоїди і, згідно з методикою [12, 13], методом полуменевої фотометрії (Flapho-4) визначали концентрацію Ca²⁺, K⁺, Na⁺.

Еякуляти розріджували за 25...30 °C лактозо-жовтково-гліцериним захисним середовищем. Тривалість етапу їх еквілібрації за 2...5 °C становила 4 год. Розріджені еякуляти заморожували, якщо показник рухливості сперматозоїдів становив 7–9 балів, а концентрація статевих клітин — 0,7–1,8 млрд/см³. Еякуляти високої якості заморожували і розморожували згідно із впровадженими у практичну роботу лабораторій держплемпідприємств, вимогами технології кріоконсервації сперми відкритими (необлицьованими) гранулами [14–16].

Результати виконаних досліджень подано: середньоарифметичною величиною (M); межами відхилень (lim) її мінімальних (min) і максимальних (max) значень; ймовірністю різниці (P) показників концентрації сперматозоїдів у спермі (млрд/см³), концентрації (мМ) Ca²⁺, K⁺, Na⁺ у спермальній плазмі і сперматозоїдах та її співвідношень між різно- (Na⁺:Ca²⁺, K⁺:Ca²⁺, Na⁺:K⁺ — у спермальній плазмі, сперматозоїдах і між ними) та одноіменними (Na⁺:Na⁺, K⁺:K⁺, Ca²⁺:Ca²⁺ — між спермальною плазмою і сперматозоїдами) парами. Для аналізу результатів досліджень використали метод варіаційної статистики [17] за допомогою комп'ютер-

ної програми *Microsoft Excel*, version 14.10 (110310).

Результати й обговорення

Визначені особливості розподілу концентрації Ca²⁺ між спермальною плазмою і сперматозоїдами в еякулятах високої й низької якості (ліміт концентрації сперматозоїдів в еякулятах становив 0,1–2,3 млрд/см³ сперми; рухливості — 0–10 балів), бугаїв голштинської чорно-рябої породи вказують на те, що ліміти її мінімальних і максимальних значень у спермальній плазмі усіх трьох груп становлять 7...8 мМ. У сперматозоїдах вони у 4 рази менші — 1,6...2,0 мМ. Вірогідність різниці величин концентрації Ca²⁺ між еякулятами дослідних груп (P_{I,II, III, I,III}) у спермальній плазмі становить >0,02...0,5; у сперматозоїдах — <0,2...>0,5 (Табл. 1).

Середній показник величини концентрації K⁺ спермальної плазми найменший у групі НКК (15 мМ), найбільший — у ВКК (47 мМ); Na⁺ найбільший у НКК (81 мМ), найменший — у ВКК (52 мМ). Аналогічну особливість, але з нижчими у 2,5 і 3,2 та 3,6 і 4,0 рази відповідно величинами виявили у сперматозоїдах. Це означає, що обернений зв'язок між концентраціями K⁺ і Na⁺ властивий для обох складових сперми бугаїв усіх дослідних груп.

Середні показники концентрації K⁺ спермальної плазми (14...28...47) і сперматозоїдів (6...11...15 мМ) вказаних груп виражені лінійно зростаючими, а Na⁺ (81...70...52 і 21...18...16 мМ) — відповідно, спадаючими величинами. Вірогідність різниці концентрації K⁺ і Na⁺ у спермальній плазмі і сперматозоїдах дуже висока: у всіх випадках P_{I,II, III, I,III} <0,001. Визначені ліміти концентрації Ca²⁺, K⁺, Na⁺ зумовлюють відповідний рівень її рівноважного стану у системі «спермальна плазма–сперматозоїди». З метою аналізу особливостей гомеостазу іонів використали показники числових відношень (ч. в.) концентрації її різноіменних пар у спермальній плазмі і сперматозоїдах та різно- (Na⁺:Ca²⁺, K⁺:Ca²⁺, Na⁺:K⁺) і одноіменних (Na⁺:Na⁺, K⁺:K⁺, Ca²⁺:Ca²⁺)

Таблиця 1

**Концентрація сперматозоїдів (млрд/см³) в еякулятах
та іонів (мМ) у спермальній плазмі і сперматозоїдах дослідних груп (M±m)**

Групи бугаїв	Стат. показники	Концентрація сперматозоїдів	Ca ²⁺	K ⁺	Na ⁺
Спермальна плазма					
I (НKK)	M±m	1,04±0,14	7,52±0,27	14,56±0,68	81,48±2,39
	lim	0,1...2,2	7...8	12...17	72...84
	P _{ли}	>0,5	>0,02	<0,001	<0,001
II (СКК)	M±m	1,00±0,15	6,27±0,32	27,98±0,73	69,87±1,98
	lim	0,1...2,3	5...7	26...31	65...75
	P _{ли}	>0,5	>0,05	<0,001	<0,001
III (ВKK)	M±m	0,82±0,12	7,26±0,40	46,64±1,83	51,91±2,08
	lim	0,2...1,7	7...8	45...52	49...54
	P _{ли}	>0,2	>0,5	<0,001	<0,001
Сперматозоїди					
I (НKK)	M±m	1,04±0,14	1,82±0,07	5,80±0,48	21,21±0,89
	lim	0,1-2,2	1,8...2,0	5...7	20...25
	P _{ли}	>0,5	<0,2	<0,001	<0,001
II (СКК)	M±m	1,00±0,15	1,70±0,07	10,82±0,58	18,00±0,44
	lim	0,1-2,3	1,6...1,8	10...12	18...21
	P _{ли}	>0,5	<0,5	<0,001	<0,001
III (ВKK)	M±m	0,82±0,12	1,76±0,17	14,79±0,76	14,38±0,63
	lim	0,2-1,7	1,8...2,2	15...17	12...17
	P _{ли}	>0,2	>0,5	<0,001	<0,001

пар між спермальною плазмою і сперматозоїдами (Табл. 2).

Константно індивідуальні, контроверзні рівні концентрації K⁺ спермальної плазми і сперматозоїдів зумовлюють наявність неоднакових величин числових виразів її відношень між різноіменними парами. Вектор величини відношень концентрації іонів сперми бугаїв дослідних груп має низ-

хідну і висхідну спрямованість. Якщо середній показник відношень концентрації Na⁺:K⁺ спермальної плазми (5:1>3:1>1:1) і сперматозоїдів (4:1>2:1>1:1) та Na⁺:Ca²⁺ (спермальна плазма — 11:1=11:1>8:1, сперматозоїди — 12:1>11:1>8:1) спрямовано від групи НKK до ВKK, то K⁺:Ca²⁺ (спермальна плазма — 2:1<4:1<6:1, сперматозоїди — 3:1<6:1<8:1) — від групи ВKK до НKK.

Таблиця 2

**Відношення концентрації іонів спермальної плазми, сперматозоїдів
та системи «спермальна плазма–сперматозоїди» (М, ч. в.)**

Групи бугаїв	Спермальна плазма			Сперматозоїди		
	Na ⁺ :K ⁺	K ⁺ :Ca ²⁺	Na ⁺ :Ca ²⁺	Na ⁺ :K ⁺	K ⁺ :Ca ²⁺	Na ⁺ :Ca ²⁺
НKK	6:1	2:1	11:1	4:1	3:1	12:1
СКК	2:1	4:1	11:1	2:1	6:1	11:1
ВKK	1:1	6:1	8:1	1:1	8:1	8:1
Система «спермальна плазма–сперматозоїди»						
	Na ⁺ :K ⁺	K ⁺ :Ca ²⁺	Na ⁺ :Ca ²⁺	K ⁺ :K ⁺	Ca ²⁺ :Ca ²⁺	Na ⁺ :Na ⁺
НKK	6:1	8:1	45:1	3:1	4:1	4:1
СКК	2:1	16:1	41:1	3:1	4:1	4:1
ВKK	1:1	25:1	29:1	3:1	4:1	4:1

З цього приводу треба зазначити, що відношення концентрації різноіменних пар іонів спермальної плазми і сперматозоїдів дослідних груп бугаїв — майже однакові. Визначена різниця їх числових виразів становить тільки $\pm 1 \dots 2$ частини вмісту Na^+ щодо K^+ і Ca^{2+} та K^+ щодо Ca^{2+} . Константність числових виразів відношень концентрації різноіменних пар $\text{Na}^+:\text{K}^+$ (1:1) та $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ (8:1) спермальної плазми і сперматозоїдів еякулятів групи ВКК, за винятком $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ (6:1 проти 8:1), виражено однаковими величинами.

Оскільки нативну сперму утворюють придаткові статеві залози (спермальна плазма) та тканини яєчок і епідидимісу (статеві клітини), то дати об'єктивну оцінку особливостям захисного впливу рівноваги вмісту іонів на стан структури й функцій сперматозоїдів та механізму активного і пасивного транспорту за дії умов етапів технології кріоконсервації сперми неможливо без визначення показників відношень концентрації їх різно- та одноіменних пар, які властиві системі типу «спермальна плазма—сперматозоїди».

Наведені результати досліджень вказують на те, що визначена спрямованість відношень концентрації різноіменної пари $\text{Na}^+:\text{K}^+$ у спермальній плазмі (6...2...1:1) та між спермальною плазмою і сперматозоїдами (6...2...1:1) в еякулятах бугаїв дослідних груп є однаковою. Але у сперматозоїдах (4...2...1:1) еякулятів групи НКК частка відношень Na^+ до K^+ на 2 частини вмісту менша.

Вектор величини числового виразу відношень концентрації $\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$ має низхідну спрямованість ($45:1 > 41:1 > 29:1$); $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$ — висхідну ($8:1 < 16:1 < 25:1$). За цих обставин величина відношень концентрації вказаних пар іонів окремо взятих складових сперми (спермальна плазма, сперматозоїди) в 4 рази менша, ніж у системі «спермальна плазма—сперматозоїди». До того ж, якщо відношення концентрації різноіменних пар іонів між спермальною плазмою і сперматозоїдами різні, то одноіменних у спермі бугаїв усіх дослідних груп — однакові: $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$ і $\text{Na}^+:\text{Na}^+$ — 4:1; $\text{K}^+:\text{K}^+$ — 3:1.

Відомо, що в активний репродуктивний період плідники можуть виділяти еякуляти, параметри життєздатності сперматозоїдів яких є низькими. Тому ще не розріджену сперму низької якості спеціалісти вибраковують одразу, не допускаючи її до технологічного процесу. Після розрідження сперми лактозо-жовтково-гліцериним захисним середовищем, а також після визначеного рівня життєздатності сперматозоїдів у деконсервованих гранулах (показники рухливості і виживання), наморожену кількість спермодоз низької якості вибраковують знову. Показник рухливості сперматозоїдів у гранулах сперми, яку допускають до осіменіння тварин, не повинен бути меншим, ніж 3 бали. Тому третій етап досліджень було присвячено з'ясуванню причин різної реакції сперматозоїдів на дію однакових умов деконсервації спермодоз. Результати виконаної обов'язкової процедури з оцінювання якості сперми подаємо визначеними за три роки середніми (М) показниками кількості отриманих і вибракуваних еякулятів (Табл. 3).

Від трьох бугаїв у кожній дослідній групі (СКК, НКК, ВКК) голштинської чорно-рябої породи, технологи відповідно отримали 510, 425, 396 нативних і 470, 339, 308 деконсервованих еякуляти високої якості. Найменший відсоток нативних нерозріджених еякулятів низької якості (10 %) виявили у групі СКК. Їх кількість у групах НКК і ВКК — в 1,7...2,4 рази більша ніж у СКК. Після деконсервації у групах СКК, НКК і ВКК вибракували 40, 86 та 88 еякулятів відповідно; за увесь процес технології кріоконсервації сперми з усіх отриманих еякулятів, у дослідних групах СКК, НКК і ВКК вибракували 17, 35 і 41% еякулятів низької якості.

Висновки

Таким чином, результати вивчення особливостей концентрації Ca^{2+} , K^+ , Na^+ та її співвідношень між різно- ($\text{Na}^+:\text{Ca}^{2+}$, $\text{K}^+:\text{Ca}^{2+}$, $\text{Na}^+:\text{K}^+$) і одноіменними парами ($\text{Na}^+:\text{Na}^+$, $\text{K}^+:\text{K}^+$, $\text{Ca}^{2+}:\text{Ca}^{2+}$) іонів лужних металів в еякулятах високої й низької якості,

Кількість отриманих і вибраканих еякулятів бугаїв голштинської чорно-рябої породи (М)

Показники	Групи бугаїв		
	СКК	НКК	ВКК
нативна сперма			
Кількість отриманих еякулятів, п	568	523	522
Кількість еякулятів високої якості, п	510	425	396
Кількість вибраканих еякулятів, п	58	98	126
Відсоток вибраканих еякулятів, %	10	17	24
деконсервована сперма			
Кількість еякулятів високої якості, п	470	339	308
Кількість вибраканих еякулятів, п	40	86	88
Відсоток вибраканих еякулятів, %	8	20	22
технологічний процес кріоконсервації сперми			
Кількість еякулятів низької якості, п	98	184	214
Відсоток еякулятів низької якості, %	17	35	41

а також визначених показників рухливості сперматозоїдів нативної і кріоконсервованої сперми дозволяють стверджувати, що сперматозоїди бугаїв голштинської чорно-рябої породи 2–10-ти річного віку групи СКК мають найвищу стійкість до шкідливої дії екзогенних факторів.

Перспективи подальших досліджень

Плануємо обґрунтувати особливості впливу змін гомеостазу іонів неорганічних та молекул органічних біологічно активних речовин на стан структури й функцій сперматозоїдів нативної і кріоконсервованої сперми.

1. Byers A., Hunter A., Seal U., Tison R. Effects of season on seminal traits and serum concentrations in captive male Siberian tigers (*Pantera tigris*). *J. Reprod. Fertil.* 1990, № 90 (1), P. 119–125.

2. Murase T., Imaeda N., Yamada H., Miazawa K. Seasonal changes in semen characteristics, composition of seminal plasma and frequency of acrosome reaction induced by calcium and calcium ionophore A23187 in Large White boars. *J. Reprod. Dev.* 2007, № 53 (4), P. 853–865.

3. Orgal S., Zeron Y., Elior N., Biran D., Friedman E., Druker S., Roth Z. Season-induced changes in bovine sperm motility following a freeze-thaw procedure. *J. Reprod. Dev.* 2012, № 58(2), P. 212–218.

4. Abdel-Rahman H., El-Belely M., Al-Oarawi A., El-Mougy S. The relationship semen quality and mineral composition of

semen various ram breeds. *Small Rumin Res.* 2000, № 38(1), P. 45–49.

5. Gusani P., Skandhan K., Valsa C., Mehta Y. Sodium and potassium in normal and pathological seminal plasma. *Acta Eur. Fertil.* 1988, № 19 (6), P. 333–336.

6. Kumar S., Ying Y., Hong P., Maddaiah V. Potassium increases intracellular calcium simulating progesterone action in human sperm. *Arch. Androl.* 2000, № 44 (2), P. 93–101.

7. Pesch S. H., Bergman M., Bostedt H. Determination of some enzymes and macro- and microelements in stallion seminal plasma and their correlations to semen quality. *Theriogenology.* 2006, № 66 (2). — P. 307–313.

8. Petrunina A., Petzoldt R., Stahlberg S., Pfeilsticker J., Beyerbach M., Bader H., Topfer-Petersen E. Sperm-cell volumetric measurements as parameters in bull function evaluation: correlation with nonreturnable rate. *Andrologia.* 2001, № 33 (6). P. 360–367.

9. Shinohara A., Chiba M., Takuechi H., Kinoshita K., Inaba Y. Trace elements and sperm parameters in semen of male partners of infertile couples. *Nihon Eiseigaku Zasshi.* 2005, № 60(4), P. 418–425.

10. Sheppard B., Harrison R., Sheppard U., Jordan M., Hannon K. Variations in elemental distribution in human spermatozoa. *Andrologia.* 1988, № 20 (3), P. 218–224.

11. Yumura Y., Saito K., Suzuki K., Ogawa T., Kanno H., Sato K., Iwasaki A., Hosaka M. The effect of high concentration of sodium and potassium ion motility of human sperm preserved in electrolyte-free solution. *Nihon*

Hiniokika Zasshi. 2002, № 93 (3), P. 440–443.

12. Maksymyuk H. V., Maksymyuk V. M. The standardized method of determining the concentration and number of displaced and Ca^{2+} , K^{+} , Na^{+} in the “cell-environment” system. *Physics of the Alive*, 2011, v.19, №1, P. 10–15 (In Ukrainian).

13. Sedilo H. M., Bashhenko M. I., Maksymyuk H. V. [et al.] Semen, spermatozoa, reproductive ability. Lviv: B.v., 2015, 134 p. (In Ukrainian).

14. GOST 20909.3-75 — GOST 20909.6-75. State standards of the SU. Bull semen

undiluted. *Test methods*. M., 1975, 49 p. (In Russian).

15. Instruction on organization and technology of work stations and enterprises for artificial insemination. *The Ministry of Agriculture of the SU*. M.: Kolos, 1981, 157 p. (In Russian).

16. Ostashko F. I., Buhrov O. D., Shynkarenko V. O. Recommendations for freezing bull semen sires. Kyiv, 1972, 38 p. (In Ukrainian).

17. Plohinskij N. A. Biometrics. M.: MGU publishing house, 1970, 367 p. (In Russian).