

УДК 636.59.082.454:598.281.7

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ПІНИ КЛОАКАЛЬНОЇ ЗАЛОЗИ НА РУХЛИВІСТЬ СПЕРМАТОЗОЇДІВ У ЯПОНСЬКИХ ПЕРЕПЕЛІВ

Ю.І. Лесняк, аспірант*

Л.І. Калакайло, студент магістратури*

В.Г. Спиридонов, доктор сільськогосподарських наук

М.Д. Мельничук, академік НААН України

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Досліджено вплив піни клоакальної залози японських перепелів (*Coturnix coturnix*) на рухливість сперматозоїдів. Встановлено, що кількість виділеної піни прямо пропорційна розміру клоакальної залози. Максимально підвищує і продовжує рухливість сперматозоїдів *in vitro* 5% екстракт піни.

Вступ. Роль пінистих виділень самців японських перепелів в процесах відтворення була предметом наукових суперечок останніх років. Ряд дослідників вважають, що піна перепелів позитивно впливає на життєздатність сперматозоїдів [9–12], в той час як інші показують протилежні результати [11]. Більшість досліджень стосовно піни японського перепела пов'язані з її кількісними і якісними характеристиками та особливостями секреції [13].

Метою даного дослідження було визначення впливу різних концентрацій екстракту піни клоакальної залози на рухливість та життєздатність сперматозоїдів самців японського перепела (*Coturnix coturnix*).

Матеріали та методи дослідження. В дослідженнях використано 70 самців японських перепелів віком не менше 12 тижнів. Їх утримували за 14-годинного

світлового дня та температури 24–26 °С, забезпечуючи повноцінний харчовий раціон. Птахів було поділено на 5 груп відповідно до розмірів клоакальної залози. Піну, зібрану від кожної групи птахів, зважували на електронних аналітичних вагах [8]. Піну масу для приготування екстракту збирали шляхом м'якого стискання пальцями клоакальної залози самця [15] і зберігали в герметичних ємностях. Для отримання екстракту один грам свіжої, чистої піни, вільної від фекального забруднення, змішували з 1,0 мл фізіологічного розчину і гомогенізували протягом 10 хв. Отриману суміш центрифугували 30 хв за 35 000 об./хв. Отриманий супернатант використовували як 100% екстракт піни. Потім розбавляли його фізіологічним розчином у пропорціях: 1:40, 1:20, 1:10, 1:4, отримуючи 2,5, 5,0, 10 та 25% екстракти піни, відповідно.

*Науковий керівник – доктор сільськогосподарських наук В.Г.Спиридонов.

Під час отримання сперми особлива увага приділялась чистоті еякуляту: для запобігання забруднення піною та іншими рідкими виділеннями, перед забором видаляли піну з клоакальної залози, після чого дану ділянку м'яко протирали серветкою. Для отримання еякуляту використовували стимуляцію самців самками [21]. Разова порція сперми складала 10–35 мкл. Для отримання контрольної суміші еякуляту на 10 мкл сперми додавали 50 мкл фізіологічного розчину; кожні наступні 10 мкл сперми розбавляли 50 мкл екстракту піни певної концентрації і добре перемішували. Відразу ж після розведення підраховували відсоток рухливих сперматозоїдів з використанням камери Маклера. Підрахунки повторювали кожні 30 хв протягом 3 год зберігання (за кімнатної температури), аби дослідити вплив піни на виживання та рухливість сперматозоїдів.

Результати досліджень та їх обговорення. В процесі дослідження було проаналізовано такі показники: розмірний індекс клоакальної залози (мм^2), кількість піни (мг/птах), вплив екстракту піни різної концентрації на рухливість та життєздатність сперматозоїдів. Середне значення розмірного індексу клоакальної залози (мм^2) збільшувалося від $229,78 \pm 1,83$ у групі 1 до $476,91 \pm 4,95$ у групі 5.

Кількість піни, зібраної в групах 1–5, становила $12,98 \pm 1,16$, $17,87 \pm 0,97$, $21,95 \pm 1,72$, $24,02 \pm 1,07$ і $26,09 \pm 1,19$ (мг/птах), відповідно. Кількісні показники в групах

3–5, були достовірно вищими ($p < 0,01$) ніж в 1 і 2; найменша кількість піни спостерігалась в групі 1 (табл.).

Відразу ж після розведення рухливість сперматозоїдів в еякуляті, розбавленому екстрактом піни, була значно вищою ніж у спермі з фізіологічним розчином (контроль). У зразках сперми, розведеної 25% екстрактом піни, відсоток рухливих сперматозоїдів був меншим ніж в усіх інших розведеннях. Після 30 хв зберігання зразків, за кімнатної температури, рухливість сперматозоїдів у групах з 2,5, 5,0 і 10% екстрактами піни була значно вищою за контроль і 25% екстракт піни. Після 1 год зберігання максимальна рухливість ($81,01 \pm 1,79\%$) спостерігалась в групі з 5% екстрактом піни; щодо інших груп, то показники були такими: 2,5% – $69,86 \pm 2,37\%$; 10% – $68,91 \pm 2,98\%$. Найнижчі показники спостерігались у варіантах контролю та з 25% екстрактом піни. Через 1,5 год рухливість в 5,0% екстракті піни складала ($72,04 \pm 3,93\%$), що достовірно перевищувало ($p < 0,01$) інші групи. Аналогічна картина рухливості спостерігалась і після 2,0 год зберігання.

Нашими дослідженнями доведено, що найвищий відсоток рухливих сперматозоїдів протягом усього експерименту спостерігався в групі з 5,0% екстрактом піни (рис.).

Отримані результати показують, що піна клоакальної залози сприяє виживанню сперматозоїдів *in vitro*, але висока її концентрація (25%) негативно впли-

Таблиця. Розмірний індекс клоакальної залози та кількісні характеристики піни японського перепела

Група	Розмірний індекс клоакальної залози (мм^2)	Кількість піни (мг/птах)
1	$229,78 \pm 1,83$	$12,98 \pm 1,16$
2	$326,02 \pm 0,87$	$17,87 \pm 0,97$
3	$380,10 \pm 0,79$	$21,95 \pm 1,72$
4	$424,27 \pm 1,97$	$24,02 \pm 1,07$
5	$476,91 \pm 4,95$	$26,09 \pm 1,19$

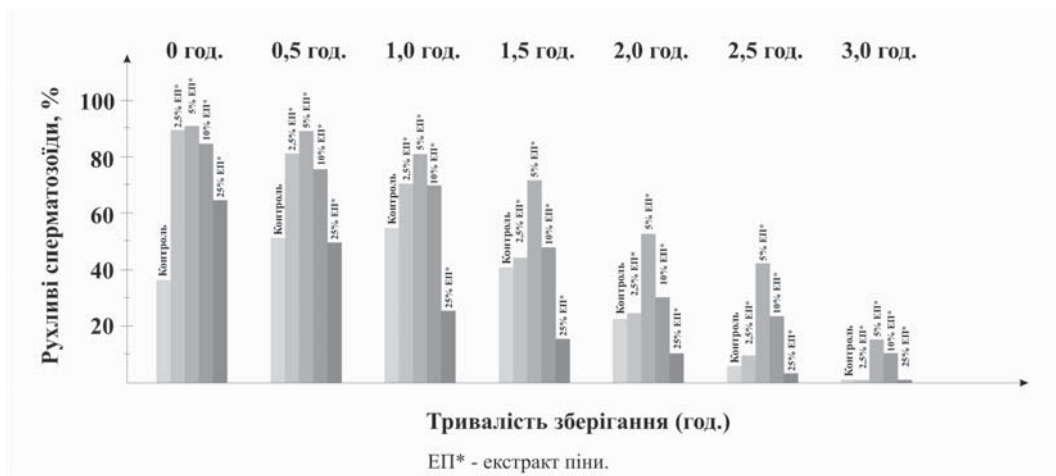


Рис. Вплив екстрактів пини різної концентрації на рухливість сперматозоїдів у різні проміжки часу зберігання за кімнатної температури

ває на рухливість сперматозоїдів.

Нами встановлено, що в сексуально активних самців японського перепела синтез пінистих мас у клоакальній залозі є вищим. Результати досліджень показали також, що кількість утворення пини корелює з розміром клоакальних залоз.

Висновки

Кількість пини клоакальної залози прямо пропорційна її розміру.

Ефективність впливу пини клоакальної залози перепела на рухливість сперматозоїдів *in vitro* залежить від її дози (концентрації екстракту пини).

5,0% екстракт пини клоакальної залози перепела покращує і подовжує рухливість сперматозоїдів.

Концентрація пини клоакальної залози перепела 10% і вище пригнічує рухливість сперматозоїдів.

Література

1. Etches R.J. Growth and Sexual Maturation. Reproduction in Poultry. — CAB International, Wallingford, UK, 1996.
2. Sachs B.D. Photoperiodic control of the cloacal gland of the Japanese quail // Science. — 1967. — 157, №3. — P. 201–203.
3. Sachs B.D. Photoperiodic control of reproductive behavior and physiology of the male Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) // Hormones and Behavior. — 1969. — 1, № 1. — P. 7–24.
4. Klemm R.D., Knight C.E., Stein S. Gross and microscopic morphology of the Glandula proctodealis (foam gland) of *Coturnix c. japonica* (Aves) // J. of Morphology. — 1973. — 141, № 2. — P. 171–184.
5. Coli W.H., Wetherbee D.K. Observations on the cloacal gland of Eurasian quail // Chilli J. of Science. — 1959. — 59. — P. 268–270.
6. McFarland L.Z., Warner R.L., Wilson W.O., Mather F.B. The cloacal gland complex of the Japanese quail // Experientia. — 1968. — 24, № 9. — P. 941–943.
7. Mohan J., Moudgal R.P., Narayan R., Tyagi J., Singh R.V. Prediction of the fertility potential of male Japanese quail // In Proceeding of the 21st World's Poultry Congress, Montreal, Canada, 2000.
8. Mohan J., Moudgal R.P., Sastry K.V.H., Tyagi J., Ingh R. Effects of hemicastration and castration on foam production and its relationship with fertility in male Japanese quail // Theriogenology. — 2002. — 58, №1. — P. 29– 39.

9. Kobayashi S., Okamoto S., Matsuo T. The influence of the foamy materials on the fertilizing capacity of semen in male Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) // Agricultural Bulletin of Saga University. — 1972. — **32**. — P. 89–95.
10. Ogawa K., Nakanishi Y., Tojo H., Imanishi M. Effect of frothy fluid from cloacal gland on fertility in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) // Animal Breed Abstract. — 1974. — **42**. — P. 5615.
11. Ayyagari V. Male reproductive system, semen collection methods and factors influencing semen production / In Proceeding of 1st National Workshop on Artificial Insemination in Poultry, CARI, Izatnagar, India, 1982. — P. 6–19.
12. Cheng K.M., Andrew R., Hickman A.R. Function of foam from the proctodeal gland of male Japanese quail // Poultry Science. — 1985. — **64**, №1. — P. 78.
13. Mohan J., Sastry K.V.H., Tyagi J.S., Singh D.K. Isolation of *E. coli* from foam and effects of fluoroquinolones on *E. coli* and foam production in male Japanese quail // Theriogenology. — 2004. — **62**, №8. — P. 1383–1390.
14. Siopes T.D., Wilson W.O. The cloacal gland — an external indicator of testicular development in coturnix // Poultry Science. — 1975. — **54**, №4. — P. 1225–1229.
15. Mohan J., Moudgal R.P., Panda J.N. Effect of quail foam on motility and ATPase activity of cock spermatozoa // Indian J. of Poultry Science. — 1991. — **26**, № 4. — P. 233–235.
16. Lake P.E. Histochemical demonstration of phosphomonoesterase secretion in the genital tract of the domestic cock // J. of Reproduction and Fertility. — 1962. — **3**. — P. 356–362.
17. Snedecor G.W., Cochran W.G. Statistical Methods, Oxford and IBH, Kolkata, India, 8th edition, 1994.
18. Duncan D.B. Multiple range and multiple F tests // Biometrics. — 1955. — **11**. — P. 1–12.
19. Ikeda K., Taji K. On the foam ejaculate of Japanese quail // Science Report of the Matsuyama Agricultural College. — 1954. — **3**. — P. 1–14.
20. Moudgal R.P., Mohan. J. Identification of unique factor in quail foam and its effect on motility and fertilizing ability of cock spermatozoa // Current Science. — 1990. — **59**, № 23. — P. 1253–1254.
21. Che.lmo.nska, B., Dymkowska, B., Jerysz, A.: Instruction of semen collection from Muscovy drake and duck artificial insemination. Agricultural University, Wroc.law, 1988; 1–38 (in Polish).

АННОТАЦІЯ

Лесняк Ю.І., Калакайло Л.І., Спиридонов В.Г., Мельничук М.Д. Особенности влияния пены клоакальной железы на подвижность сперматозоидов у японских перепелов // Биоресурсы и природопользование. — 2014. — 6, № 3–4. — С. 22–26.

*Исследовано влияние пены клоакальной железы японского перепела (*Coturnix coturnix*) на подвижность сперматозоидов. Показано, что количество выделяемой пены прямо пропорционально размеру клоакальной железы. Максимально усиливает и продолжает подвижность сперматозоидов *in vitro* 5% экстракт пены.*

SUMMARY

Y. Lesniak, L. Kalakaylo, V. Spiridonov, M. Melnychuk. Characteristics of influence of foam of cloacal glands on sperm motility in Japanese quail//Biological Resources and Nature Management. — 2014. — 6, № 3–4. — P. 22–26.

*The influence of foam of cloacal gland of the Japanese quail (*Coturnix coturnix*) on sperm motility is studied. The amount allocated in direct proportion to the size of foam of cloacal gland is shown. The 5% extract of foam maximum enhances and continues motility *in vitro*.*