



УДК 636.2:591.463.1

Якість спермійів за розрідження еякулятів бугаїв лактозо–жовтково–гліцериновим середовищем

С.Й. Кава¹, Д.Д. Остапів², І.М. Яремчук², Ю.В. Боднар², Н.В. Кузьміна²
SKava@ukr.net

¹ Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна;
² Інститут біології тварин НААН,
вул. Василя Стуса, 38, Львів, 79000, Україна

Якість і запліднювальна здатність спермійів кріоконсервованої сперми залежить від численних факторів, зумовлених як фізіологічними характеристиками, так і середовищами розрідження еякулятів бугаїв. Тому вивчали фізіологічні характеристики еякулятів, дихальну активність й відновну здатність сперми, вміст ліпопротеїнів, виживання і активність сукцинатдегідрогенази спермійів за розрідження сперми лактозо–жовтково–гліцериновим середовищем.

Встановлено, що свіжоотримані еякуляти бугаїв характеризуються об'ємом – 2,0 – 8,0 мл і концентрацією спермійів – 0,28 – 1,56 млрд /мл. При цьому, дихальна активність сперми коливається в межах 0,70 – 2,02 нг–атом О/хв×0,1 мл сперми, а відновна здатність 0,02 – 0,14 тV/хв×0,1мл сперми. Виявлено, що для свіжоотриманих еякулятів бугаїв характерний вміст фракцій ліпопротеїнів: хіломікрон (ХМ) – 26,9 ± 1,93%, дуже низької щільності – 10,4 ± 0,44%, низької (β–ЛП) – 18,3 ± 1,84%, високої (α–ЛП) – 17,1 ± 1,09% та дуже високої щільності – 26,8 ± 1,94%. Розрідження сперми ЛЖГР призводить до вірогідного (p < 0,001) підвищення вмісту ліпопротеїнів дуже низької щільності та зниження ліпопротеїнів дуже високої щільності. Виживання спермійів у розріджених ЛЖГР еякулятах коливається в межах 77,1 – 162,0 год, а активність ензиму–маркера запліднювальної здатності – сукцинатдегідрогенази – 5,0 – 71,7 од/год×0,1 мл сперми.

Ключові слова: дихальна активність, відновна здатність, вміст ліпопротеїнів, розріджувач, виживання, спермій, еякулят, бугай.

Качество спермиев при разбавлении эякулятов быков лактозо–желточно–глицериновой средой

С.Й. Кава¹, Д.Д. Остапів², І.М. Яремчук², Ю.В. Боднар², Н.В. Кузьміна²
SKava@ukr.net

¹ Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого,
ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина;
² Институт биологии животных НААН,
ул. Василия Стуса, 38, Львов, 79000, Украина

Качество и оплодотворяющая способность спермиев кріоконсервированной спермы зависит от численных факторов, обусловленных как физиологическими характеристиками, так и средами разбавления эякулятов быков. Поэтому изучали физиологические характеристики эякулятов, дыхательную активность и восстановительную способность спермы, содержание липопротеинов, выживание и активность сукцинатдегідрогеназы спермиев при разбавлении спермы лактозо–желточно–глицериновой средой.

Установлено, что свежеполученные эякуляты быков характеризуются объемом – 2,0 – 8,0 мл и концентрацией спермиев – 0,28 – 1,56×10⁹ клеток/мл. При этом, дыхательная активность спермы колеблется в пределах 0,70 – 2,02 нг–атом

Citation:

Kava, S.Y., Ostapiv, D.D., Yaremchuk, I.M., Bodnar, Yu.V., Kuzmina, N.V. (2016). Quality of spermatozoa in bull ejaculates dilution by lactose–yolk–glycerine environment. Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj, 18, 3(70), 128–131.

O/hv×0,1 мл сперми, а восстановительная способность 0,02 – 0,14 mV/hv×0,1мл спермы. Выявлено, что для свежесполученных эякулятов быков характерное содержание фракций липопротеинов: хиломикрон (ХМ) – 26,9 ± 1,93%, очень низкой плотности – 10,4 ± 0,44%, низкой (β-ЛП) – 18,3 ± 1,84%, высокой (α-ЛП) – 17,1 ± 1,09% и очень высокой плотности – 26,8 ± 1,94%. Разбавление спермы лактозо–желточно–глицериновой средой обуславливает статистически вероятное (*p* < 0,001) повышение содержания липопротеинов очень низкой плотности и снижение липопротеинов очень высокой плотности. Выживание спермиев в разбавленных лактозо–желточно–глицериновой средой эякулятах колеблется в пределах 77,1 – 162,0 ч, а активность энзима–маркера оплодотворяющей способности – сукцинатдегидрогеназы – 5,0 – 71,7 од/ч×0,1 мл спермы.

Ключевые слова: дыхательная активность, восстановительная способность, содержание липопротеинов, разбавитель, выживание, спермий, эякулят, бык.

Quality of spermatozoa in bull ejaculates dilution by lactose–yolk–glycerine environment

S.Y. Kava¹, D.D. Ostapiv², I.M. Yaremchuk², Yu.V. Bodnar², N.V. Kuzmina²
SKava@ukr.net

¹ Lviv national university of veterinary medicine and biotechnologies named after S. Gzhytskyj, Pekarska Str., 50, Lviv, 79010, Ukraine;
²Institute of animal biology NAAS, Vasyly Stus Str., 38, Lviv, 79000, Ukraine

Quality and fertilizing ability of spermatozoa in cryopreserved sperm depends on numerous factors caused by both physiological characteristics and environments dilution of bull ejaculates. So studying physiological characteristics of ejaculates, respiratory activity and redox ability of sperm, content of lipoproteins, succinate dehydrogenase activity and survival of spermatozoa in sperm diluted by lactose–yolk–glycerine environment.

*It was found that freshly obtained bull semen can be characterized by: volume – 2.0 – 8.0 ml sperm concentration – 0.28–1.56 × 10⁹ cells / ml. Thus, the respiratory activity of sperm ranges from 0.70–2.02 ng–atom O / min × 0,1 ml of semen and redox ability 0,02–0,14 mV/min × 0,1 ml of semen. It was found that typical freshly obtained bull ejaculates characterize by such content of lipoprotein fractions: chylomicrons (hm) – 26,9 ± 1,93%, lipoproteins with very low density – 10,4 ± 0,44%, low (β-LP) – 18,3 ± 1.84%, high (α-LA) – 17,1 ± 1,09% and very high density – 26,8 ± 1,94%. Dilution of semen by lactose–yolk–glycerine environment leads to a likely (*p* < 0,001) increase in the content of lipoproteins with very low density and reduction in high density lipoprotein fraction. The survival of spermatozoa in sperm diluted by lactose–yolk–glycerine medium varies between 77.1–162.0 hours, and the activity of the enzyme–marker of fertilizing ability succinate dehydrogenase – 5.0–71.7 UI / h × 0,1 ml of semen.*

Keywords: respiratory activity, the and redox ability, the content of lipoproteins, diluent, survival, spermatozoa, ejaculate, bull.

Вступ

Якість і запліднювальна здатність сперміїв залежить від фізіологічних характеристик еякулятів бугаїв (Jablons'kuj et al., 2009). При цьому, виживання і стійкість статевих клітин до зовнішніх чинників у спермі забезпечуються природними енергетичними субстратами й сполуками з антиоксидантними властивостями, а за розрідження і підготовки до кріоконсервування та розморожування, ще й речовинами з кріопротекторними властивостями, які зумовлюють стійкість мембранних структур сперміїв до наднизьких температур (Ostashko, 1995). Однак, залежно від компонентів та їх співвідношення у складі середовищ розрідження еякулятів бугаїв змінюються як використання субстратів, так і тривалість існування й запліднювальна здатність статевих клітин.

Тому, вивчали фізіологічні характеристики еякулятів, дихальну й відновну здатність сперми, вміст липопротеїнів, виживання і активність сукцинатдегідрогенази сперміїв за розрідження сперми лактозо–жовтково–глицериновим середовищем.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведені в Інституті біології тварин НААН, Львівському національному університеті ве-

теринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького та ЛНВЦ «Західплемресурси». Сперму бугаїв отримували на штучну вагіну з режимом використання плідників дуплетна садка два рази на тиждень, через дві – три доби.

Свіжоотримані еякуляти оцінювали за об'ємом (мл), концентрацією сперміїв (млрд/мл), виживанням сперміїв при температурі 2 – 4 °С до припинення прямолінійного поступального руху (год.) у спермі розрідженій лактозо–жовтково–глицериновим середовищем (ЛЖГР); активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) з використанням 2,3,5–трифенілтетразолію і натрію сукцинату (од/год×0,1 мл сперми; С) (Chuhrij and Klevec', 1978); дихальну активність – полярографічно (нг–атом O/hv×0,1 мл С) у термостатованій комірці (температура 38,5 °С) об'ємом 1,0 мл (Lukjanova et al., 1982); відновну здатність – потенціометрично (mV/hv×0,1 мл С) з використанням універсального йонміра ЕВ 74 та системи відкритих мікроелектродів (Shtol'c et al., 1980). Якісний та кількісний вміст фракцій липопротеїнів (ЛП) методом електрофорезу в поліакриламідному гелі (ПААГ) з градієнтом концентрацій акриламідну: 3,5%, 5,0% та 7,5% і фарбуванням 0,1% розчином фарб Судан III + Судан IV (1:1) у 70% етиловому спирті. Ідентифікували фракції: хіломікрони (ХМ) і ліпопротеїни (ЛП): пре-β-ЛП (дуже низької щільності; ДНЦ); β-ЛП (низької щіль-

ності; НЩ); α -ЛП (високої щільності; ВЩ); ДВЩ (дуже високої щільності). Статистичний аналіз проведено за М. О. Плохінським (Plohinskij, 1969).

Результати та їх обговорення

Свіжоотримані еякуляти бугаїв характеризуються значними коливаннями фізіологічних показників: від 2,0 до 8,0 мл – об’єм і від 0,28 до 1,56 млрд /мл – концентрація спермій (табл.1).

Таблиця 1

Характеристика якості еякулятів бугаїв

Досліджувані показники	n	M±m	lim
Об’єм еякуляту, мл	75	4,3 ± 0,18	2,0 – 8,0
Концентрація, млрд/ мл	75	0,76 ± 0,09	0,28 – 1,56
Дихальна активність, нг-атом O/хв×0,1 мл С	92	1,11±0,13	0,70 – 2,02
Відновна здатність, mV/хв×0,1мл С	83	0,09 ± 0,025	0,02 – 0,14

Незважаючи на значні коливання досліджених показників їх середні величини відповідають фізіологічним межам якості еякулятів бугаїв. При цьому, для свіжоотриманої сперми характерні дихальна активність – 1,11 ± 0,13 нг-атом O/хв×0,1 мл С та відновна здатність 0,09 ± 0,025 mV/хв×0,1мл С. Поряд з вказаним, виявлені особливості відновної здатності: з числа досліджених еякулятів, у 7,2% зразків протікають процеси використання протонів з позаклітинного середовища – швидкість становить 0,02 ± 0,003 mV/хв×0,1мл С. Значні коливання досліджених фізіологічних показників, дихальної активності і відновної здатності сперми зумовлені індивідуальними особливостями й якістю підготовки плідників до еякуляції (Kosenko et al., 2007).

Аналіз спектру ліпопротеїнів свіжоотриманих еякулятів вказує на подібні коливання величин значень кожної з виявлених фракцій. Зокрема, вміст хіломікрон (ХМ) становить 26,9 ± 1,93%, ліпопротеїнів (ЛП) дуже низької щільності (ДНЩ) – 10,4 ± 0,44%, низької (β-ЛП) – 18,3 ± 1,84%, високої (α-ЛП) – 17,1 ± 1,09% та дуже високої щільності – 26,8 ± 1,94% (табл. 2).

Таблиця 2

Спектр ліпопротеїнів сперми бугаїв за розрідження еякулятів лактозо-жовтково-гліцериним середовищем

Досліджувані показники	Ліпопротеїни (ЛП) сперми, %					
	свіжоотриманої			розрідженої		
	n	M±m	lim	n	M±m	lim
ХМ	82	26,9 ± 1,93	2,0 – 70,0	14	28,5 ± 4,19	9,4 – 75,9
пре-β (ЛПДНЩ)	78	10,4 ± 0,44	1,0 – 70,0	14	16,4 ± 1,30***	6,3 – 29,4
β-ЛП (ЛПНЩ)	82	18,3 ± 1,84	7,0 – 89,0	14	21,0 ± 1,60	7,8 – 41,5
α-ЛП (ЛПВЩ)	63	17,1 ± 1,09	2,0 – 40,0	14	22,2 ± 2,83	6,4 – 44,8
ЛПДВЩ	59	26,8 ± 1,94	3,0 – 63,0	14	16,9 ± 2,08***	4,3 – 31,0

Примітка. Різниця статистично вірогідна порівняно з свіжоотриманою спермою: *** p < 0,001

Розрідження сперми лактозо-жовтково-гліцериним середовищем призводить до змін електрофоретичної рухливості ліпопротеїнів. Зокрема, підвищується на 6,0% (p < 0,001) вміст ЛПДНЩ та на 9,9% (p < 0,001) знижується ЛПДВЩ. Виявлені зміни характеризують здатність сперми, зокрема, протеїнів плазми та мембран спермій зв’язувати та адсорбувати компонент розріджувача еякулятів – ліпіди жовтка і утворювати електрофоретично стійкі ліпід-протеїнові комплекси.

Вживання спермій за розрідження лактозо-жовтково-гліцериним середовищем еякулятів знаходиться в межах 77,1 – 162,0 год, а активність ензиму-маркера запліднювальної здатності – СДГ – 5,0 – 71,7 од/год×0,1 мл С (табл. 3).

Таблиця 3

Якість спермій за розрідження еякулятів бугаїв лактозо-жовтково-гліцериним середовищем

Досліджувані показники	n	M±m	lim
Вживання при 2–4°С, год	141	111,8 ± 10,49	77,1 – 162,0
СДГ, од/год×0,1 мл С	117	51,8 ± 5,41	5,0 – 71,7

Як впливає з результатів досліджень вживання та запліднювальна здатність спермій проявляє значні коливання на фоні змін фізіологічних характеристик

якості еякулятів, дихальної активності і відновної здатності, вмісту ліпопротеїнів сперми бугаїв. Тому, для забезпечення стабільної якості спермопродукції, високої запліднювальної здатності спермій необхідно дотримуватись технології отримання еякулятів та, з урахуванням індивідуальних особливостей, умов підготовки до садки бугаїв.

Висновки

1. Свіжоотримані еякуляти бугаїв характеризуються об’ємом – 2,0 – 8,0 мл і концентрацією спермій – 0,28 – 1,56 млрд /мл.
2. Дихальна активність сперми коливається в межах 0,70 – 2,02 нг-атом O/хв×0,1 мл С, а відновна здатність 0,02 – 0,14 mV/хв×0,1мл С.
3. Вміст фракцій ліпопротеїнів у свіжоотриманих еякулятах становить: хіломікрон (ХМ) – 26,9 ± 1,93%, дуже низької щільності – 10,4±0,44 %, низької (β-ЛП) – 18,3 ± 1,84%, високої (α-ЛП) – 17,1 ± 1,09% та дуже високої щільності – 26,8 ± 1,94%.
4. Розрідження сперми лактозо-жовтково-гліцериним середовищем призводить до вірогідного (p < 0,001) підвищення вмісту ліпопротеїнів дуже низької щільності та зниження ліпопротеїнів дуже високої щільності.

5. Вживання сперміїв у розріджених лактозо-жовтково-гліцериновим середовищем еякулятах в межах 77,1 – 162,0 год, а активність ензиму-маркера запліднювальної здатності – СДГ – 5,0 – 71,7 од/год×0,1 мл С.

Бібліографічні посилання

- Jablons'kyj, V.A., Homyn, S.P., Zavrjuha, V.I. ta in. (2009). Biotehnologichni i molekularno-genetychni osnovy vidtvorennya tvaryn. L'viv: Afisha (in Ukrainian).
- Ostashko, F.I. (1995). Biotehnologija vosproizvedenija krupnogo roगतого skota. Kiev: Agrarna nauka (in Ukrainian).
- Chuhrij, B.M. Klevec', L.O. (1978). Do metodyky vyznachennja aktyvnosti oksyljuval'nyh fermentiv u spermi bugai'v. Rozvedennja ta shtuchne osimeninnja velykoi' roगतoi' hudoby. Kyi'v. 10, 42–45. (in Ukrainian).
- Lukjanova, L.D., Balmuhanov, B.S., Ugolev, L.T. (1982). Kislorodzavisimye processy v kletke i ee funkcional'noe sostojanie. M.: Nauka (in Russian).
- Shtol'c, K.F., Mosolova, I.M., Dronova, L.A. (1980). Amperometricheskoe opredelenie ferrocianida v prisutstvii subkletochnyh struktur. Biohimicheskie metody. M.: Nauka. 147–150 (in Russian).
- Plohinskij, N.A. (1969). Rukovodstvo po biometrii. M.: Kolos (in Russian).
- Kosenko, M.V., Chuhrij, B.M., Kocjumbas, I.Ja., Klevec', L.O. ta in. (2007). Reproduktyvna funkcija i andrologichna dyspanseryzacija bugai'v. L'viv. 186. (in Ukrainian).

Стаття надійшла до редакції 27.09.2016