

## УДОСКОНАЛЕННЯ МЕТОДУ ОЦІНКИ ЯКОСТІ СПЕРМИ КНУРІВ-ПЛІДНИКІВ

**Гришина Л.П.**, доктор сільськогосподарських наук  
**Волощук О.В.**, молодший науковий співробітник  
Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН  
36013, м. Полтава, вул. Шведська Могила, 1  
pigbreeding@ukr.net

*Відтворювальна здатність свиноматок залежить від багатьох факторів, зокрема від якості сперми кнурів-плідників. Тому, вивчення спермопродукції плідників сучасних порід, відселекціонованих на високу швидкість росту, має важливе значення, так як основною властивістю сперміїв є здатність до запліднення яйцеклітин. Характерною рисою сперміїв кнурів є рухливість. Енергію спермії отримують у результаті такого біохімічного процесу як дихання, який відбувається під впливом дихального ферменту – дегідрогенази. На даний час методи визначення дегідрогеназної активності потребують подальшого удосконалення.*

*Метою наших досліджень було визначення спермопродукції кнурів різних порід та удосконалення методу оцінки сперми плідників за дегідрогеназною активністю.*

*Дослідження були проведені в умовах племінного заводу з розведення свиней великої білої породи ДП ДГ «Степне» Полтавського району Полтавської області. Для проведення досліджень були сформовані три групи кнурів-плідників великої білої породи, ландрас і п'єтрєн.*

*Встановлено, що найбільший об'єм еякуляту був у кнурів великої білої породи, які переважали за цим показником плідників породи ландрас на 204,2 мл ( $p \leq 0,001$ ) та породи п'єтрєн на 77,5 мл ( $p \leq 0,001$ ). Проте, концентрація сперміїв в еякуляті у них була найменшою і становила 0,27 млрд/мл, що на 0,311 ( $p \leq 0,001$ ) менше ніж у плідників породи ландрас та на 0,113 млрд/мл ніж у кнурів породи п'єтрєн.*

*Удосконалення методики визначення дегідрогеназної активності полягало у зменшенні концентрації метиленового синього з 0,01% до 0,005% та визначенні цього показника за кімнатною температурою 18°C (у разі відсутності термостату) або за температурою 38°C – у разі його наявності.*

*Встановлено, що за стандартною температурою 38°C показник дегідрогеназної активності у плідників порід велика біла і ландрас був майже однаковим, проте у кнурів породи п'єтрєн спостерігалася тенденція до збільшення часу обезбарвлення метиленового синього на 1,13 хвилин. Дослідження дегідрогеназної активності сперми кнурів за температури 18°C показали, що час обезбарвлення метиленового синього у нативній спермі збільшився, проте тенденції залишилися ті ж самі.*

*Проведений кореляційний аналіз встановив, що дегідрогеназна активність має достовірний від'ємний зв'язок з кількістю сперміїв в еякуляті ( $r = -0,564 \dots -0,6008^{***}$ ) та рухливістю ( $r = -0,554 \dots -0,654^{***}$ ), а також встановлено, що між дегідрогеназною активністю при температурі 38°C і 18°C встановлений високий позитивний зв'язок ( $r = 0,852-0,916^{***}$ ), що вказує на ефективність використання запропонованого методу на практиці.*



*Ключові слова: спермопродуктивність плідників, концентрація сперми, дегідрогеназна активність, інтенсивність дихання сперміїв, терморезистентна проба.*

Удосконалення та розширення можливостей штучного осіменіння висувають підвищені вимоги до якості спермопродукції плідників.

Повноцінний сперматогенез залежить від багатьох чинників, а саме – від умов утримання, параметрів мікроклімату, генетики, режиму експлуатації, темпераменту та повноцінної годівлі кнурів. Процес сперматогенезу розпочинається в ембріональний період, проте утворення повноцінних сперміїв відбувається у самців після досягнення ними статевої зрілості [1].

Вивчення відтворювальної здатності кнурів сучасних порід, відселекціонованих на високу швидкість росту, має важливе значення, тому що кількісні та якісні показники сперми плідників в значній мірі залежать від генетичних особливостей тварин.

За даними Н.А. Мартиненко [2] на показник багатоплідності молодих та дорослих свиноматок впливають такі фактори як: інтенсивність овуляції, заплідненість, ембріональна смертність і розвиток матки.

На думку О.В. Квасницького [3], чим біологічно менш повноцінна зигота, тим швидше вона гине і навпаки. Тому загибель зигот (а у наступному ембріонів) відбувається тим раніше, чим менш повноцінними були статеві клітини, що їх утворили. Тому, у сучасний період важливого значення набуває якісна оцінка сперми кнурів м'ясних порід.

Характерною рисою сперміїв кнурів є рухливість. Після еякуляції спермії знаходяться в безперервному русі, тому потреба в енергії у них велика. У кнурів, на відміну від інших видів сільськогосподарських тварин, енергія утворюється при диханні, тому що малий вміст фруктози нездатний забезпечити гліколіз. Енергію спермії отримують у результаті такого біохімічного процесу як дихання. При диханні окислюються всі поживні речовини – білки, жири, вуглеводи з утворенням енергії, води, вуглекислого газу та інших продуктів. Цей процес відбувається під впливом цілого ряду ферментів, одним з яких є дегідрогеназа. Дегідрогеназа належить до дихальних ферментів і знаходиться у значній кількості у хвостовій частині спермія. Вона діє як окислювальний фермент і відщеплює іони водню від субстрату, при цьому акцепторами водню можуть бути деякі барвники, наприклад метиленовий синій, який приєднуючи іони водню перетворюється в знебарвлене з'єднання – відновлений синій. Знебарвлення настає внаслідок витрати кисню в розчині. Ця властивість сперміїв кнурів-плідників широко використовується при вивченні метаболізму статевих клітин. Проте, методики, що використовуються при визначенні дегідрогеназної активності застарілі, і тому потребують подальшого удосконалення.

Отже, метою наших досліджень було визначення спермопродукції кнурів різних порід та удосконалення методу оцінки сперми плідників за дегідрогеназною активністю.

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження були проведені в умовах племінного заводу з розведення свиней великої білої породи ДП ДГ «Степне» Полтавського району Полтавської області. Для проведення досліджень були сформовані три групи кнурів-плідників великої білої породи, ландрас і п'єтрен. Основні показники якості сперми: об'єм еякуляту, концентрацію сперміїв в 1 мл та загальну кількість сперміїв в еякуляті, рухливість сперміїв та терморезистентну пробу визначали за загальноприйнятими методиками, згідно Інструкції із штучного осіменіння свиней [4]. Дегідрогеназну активність сперми визначали за методикою П.К. Майера [5] в нашій модифікації [6].



Статистичну обробку матеріалів досліджень здійснювали загальноприйнятими методами з використанням програми STATISTICA 12.0. Порівняння середніх арифметичних значень проводили методом Стьюдента, визначення залежностей між ознаками – методом кореляційного аналізу з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона. Статистичні гіпотези перевірені на рівнях значущості: \* $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  і \*\*\*  $p < 0,001$ .

**Результати досліджень.** Проведені дослідження показали (табл. 1), що найбільший об'єм еякуляту був у кнурів великої білої породи, які переважали за цим показником плідників породи ландрас на 204,2 мл ( $p \leq 0,001$ ) та породи п'єтрен на 77,5 мл ( $p \leq 0,001$ ). Проте, концентрація сперміїв в еякуляті у них була найменшою і становила 0,27 млрд/мл, що на 0,311 ( $p \leq 0,001$ ) менше ніж у плідників породи ландрас та на 0,113 млрд/мл ніж у кнурів породи п'єтрен.

### 1. Показники якості сперми кнурів-плідників різних порід

Порода	Кількість еякулятів	Об'єм еякуляту, мл	Концентрація сперміїв, млрд./мл	Кількість сперміїв в еякуляті, млрд	Рухливість, бал	ТРП, бал
ВБ	56	384,2±12,77	0,277±0,0290	94,2±9,81	8,4±0,09	6,6±0,32
Л	41	180,0±8,67	0,588±0,0536	87,8±6,96	8,4±0,16	5,9±0,46
П	87	306,71±9,06	0,390±0,0403	87,9±8,98	8,2±0,09	6,2±0,35

На показник загальної кількості сперміїв в еякуляті впливають як об'єм, так і концентрація, тому найвище значення цього показника спостерігалось у тварин великої білої породи.

Одним з важливих показників якості сперми є тривалість її життя поза організмом, яку ми визначали за допомогою терморезистентної проби. Отримані дані свідчать, що кнури вивчаємих порід мали сперму хорошої якості, однак достовірної різниці між ними за цим показником встановлено не було.

Оцінка сперми кнурів-плідників за дегідрогеназною активністю характеризує дихання сперміїв. У свинарстві відомий спосіб визначення дегідрогеназної активності сперми кнурів за методикою П.К. Майєра [5], яка полягає у знебарвленні 0,01% метиленового синього у термостаті при температурі 38-40°C. Однак, проведені дослідження показали, що концентрація метиленового синього 0,01% є надмірною для обезбарвлення сперми кнурів. Встановлено, що понад 50 % еякулятів не знебарвлюються при використанні даної методики. Тому нами було запропоновано зменшити концентрацію барвника удвічі (до 0,005 %) і визначати час обезбарвлення метиленового синього при кімнатній температурі (18° С).

Дослідження проводили наступним чином: від кожного кнура відбирали по 3 мл нативної сперми, потім її розбавляли і відбирали також по 3 мл розбавленої сперми. Сперму розбавляли через 30-60 хв. після її одержання синтетичним середовищем німецького виробництва фірми «Міні-Тюб» BTS. Ступінь розбавлення розраховували так, щоб в 1 мл розбавленої сперми містилось 50 млн. біологічно-повноцінних сперміїв, залежно від показників їх рухливості та концентрації у нативній спермі (від 1:1,5 до 1:3,5). Далі в нативну сперму вводили розчин метиленового синього у співвідношенні 1:1 та інкубували при температурі + 38°C в термостаті і за кімнатної температури +18°C. Аналогічні дослідження проводили з розбавленою спермою.

Отримані нами дані свідчать (табл. 2), що за стандартною температурою 38°C показник дегідрогеназної активності у плідників породи велика біла і ландрас був майже



однаковим, проте у кнурів породи п'єтрен спостерігалася тенденція його збільшення на 1,13 хвилини.

## 2. Показники дегідрогеназної активності нативної і розбавленої сперми кнурів

Породи	Дегідрогеназна активність при температурі			
	38°C		18 °C	
	Сперма			
	нативна	розбавлена	нативна	розбавлена
ВБ	17,00±0,897	11,55±0,686	22,05±1,099	15,37±0,913
Ландрас	16,86±1,027	10,73±0,789	22,13±0,914	14,93±0,771
П'єтрен	18,13±0,878	12,46±0,701	23,45±1,037	16,35±0,868

Аналогічні закономірності спостерігалися й при розбавленій спермі.

Дослідження дегідрогеназної активності сперми кнурів за температури 18°C показали, що час обезбарвлення метиленового синього у нативній спермі збільшився, проте тенденції залишилися ті ж самі. На рис. 1 наочно представлений показник дегідрогеназної активності різних порід свиней, який показує чітку різницю між породами кнурів, проте закономірності залишилися однаковими, що й за температури 38°C.

Проведений кореляційний аналіз встановив (табл. 3), що дегідрогеназна активність має достовірний від'ємний зв'язок з кількістю сперміїв в еякуляті ( $r = -0,564 \dots -0,6008^{***}$ ) та рухливістю ( $r = -0,554 \dots -0,654^{***}$ ), а також невеликий, але достовірний зв'язок з концентрацією сперміїв в 1 мл еякуляту ( $r = -0,2889 \dots -0,370^*$ ). Разом з тим, необхідно відмітити, що між дегідрогеназною активністю при температурі 38°C і 18°C встановлений високий позитивний зв'язок ( $r = 0,852-0,916^{***}$ ), що вказує на можливість використання запропонованого методу на практиці.

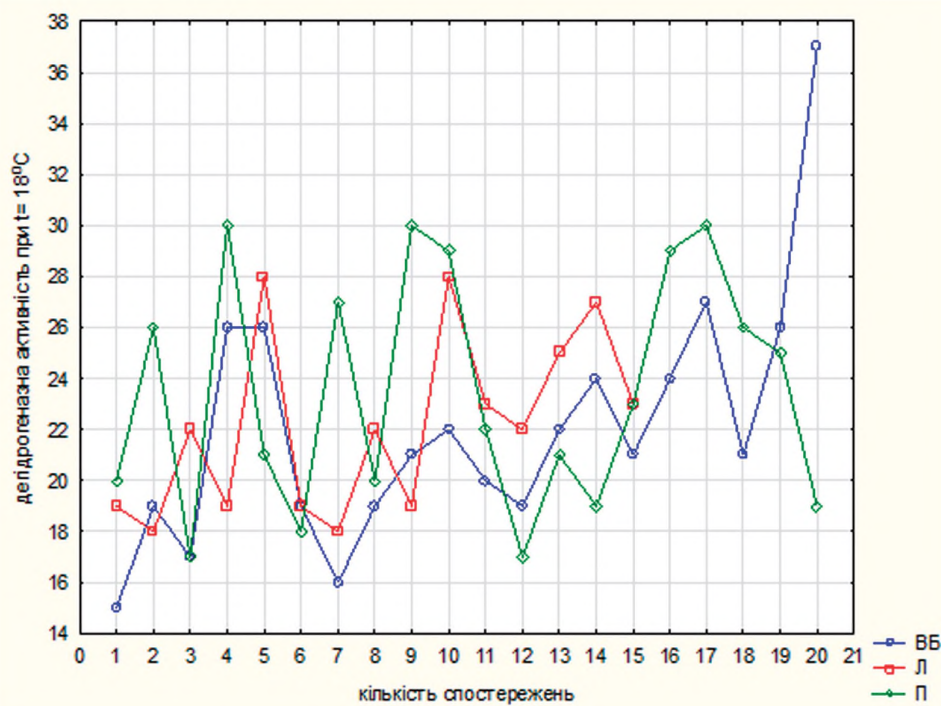


Рис. 1. Дегідрогеназна активність нативної сперми кнурів при температурі 18°C

### 3. Коефіцієнти кореляції між кількісними та якісними показниками спермопродукції кнурів

Ознаки	Об'єм еякуляту, мл	Концентрація спермій в 1 мл еякуляту, млрд./мл	Кількість спермій в еякуляті, млрд./мл	Рухливість, бал	ДА нативної сперми при t=18°C, хв.	ДА розбавленої сперми при t=18°C, хв.	ДА нативної сперми при t=38°C, хв.	ДА розбавленої сперми при t=38°C, хв.	ТРП, бал
№	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	1,00	-0,609± 0,1089*	0,194± 0,1347	0,111± 0,1365	-0,281± 0,1318*	-0,255± 0,1328	-0,218± 0,1340	-0,217± 0,1341	0,410± 0,1253*
2	-0,609± 0,1089*	1,00	0,524± 0,1169*	0,168± 0,1354	-0,289± 0,1315*	-0,338 0,1293*	-0,329± 0,1297*	-0,370± 0,1276*	-0,321± 0,1301*
3	0,194± 0,1347	0,524± 0,1169*	1,00	0,305± 0,1308*	-0,601± 0,1097*	-0,594± 0,1105*	-0,564± 0,1134*	-0,601± 0,1097*	-0,108± 0,1365
4	0,111± 0,1365	0,168± 0,1354	0,305± 0,1308*	1,00	-0,554± 0,1143*	-0,599± 0,1099**	-0,654± 0,1039*	-0,645± 0,1050*	0,151± 0,1358
5	-0,281± 0,1318*	-0,289± 0,1315*	-0,601± 0,1097*	-0,554± 0,1143*	1,00	0,916± 0,0551*	0,899± 0,0601*	0,852± 0,0719*	-0,054± 0,1372
6	-0,255± 0,1328	-0,338 0,1293*	-0,594± 0,1105*	-0,599± 0,1099*	0,916± 0,0551*	1,00	0,890± 0,0626	0,926± 0,0518	-0,084± 0,1369
7	-0,218± 0,1340	-0,329± 0,1297*	-0,564± 0,1134*	-0,654± 0,1039*	0,899± 0,0601*	0,890± 0,0626	1,00	0,939± 0,0472*	-0,062± 0,1370
8	-0,217± 0,1341	-0,370± 0,1276*	-0,601± 0,1097*	-0,645± 0,1050*	0,852± 0,0719*	0,926± 0,0518	0,939± 0,0472*	1,00	-0,066± 0,1371
9	0,410± 0,1253*	-0,321± 0,1301*	-0,108± 0,1365	0,151± 0,1358	-0,054± 0,1372	-0,084± 0,1369	-0,062± 0,1370	-0,066± 0,1371	1,00

**Висновки.** Встановлено, що кнури великої білої породи переважали за об'ємом еякуляту, загальною кількістю спермій в еякуляті, а також виживаністю сперми поза організмом, проте інтенсивність дихання спермій була кращою у плідників породи ландрас.

Запропонований нами метод дозволяє ефективно проводити оцінку якості сперми кнурів за дегідрогеназною активністю у нативній і розбавленій спермі в умовах лабораторій штучного осіменіння.

#### БІБЛІОГРАФІЯ

1. Бабань, О.А. 2017. «Фактори впливу на якість сперми кнурів-плідників». [http // pig.tekro.ua](http://pig.tekro.ua), 03.03.2017.
2. Мартыненко, Н.А. 2002. «Причини предупреждения мертворождаемости у свиноматок». *Вісник ПДАА* 5(6):122-129.
3. Квасницкий, Алексей. 1983. *Искусственное осеменение свиней*. К.: Урожай.
4. Мельник, Юрий, відповід. 2003. *Інструкція із штучного осіменіння свиней*. К.: Аграрна наука.
5. Майер, П.К. 1972. «Показатели качества спермы хряков-производителей». *Ветеринария*. 7:106-108.
6. Волощук, Олександр. 2017. «Оцінка сперми кнурів за дегідрогеназною активністю» *Матеріали XV всеукраїнської наукової конференції молодих вчених*, с. Чубинське. Травень 19.



## REFERENCES

1. Baban' O.A. 2017. Faktory vplyvu na yakist' spermy knuriv-plidnykiv. – *Factors influencing the quality of the semen of boars-sires*. [http // pig.tekro.ua](http://pig.tekro.ua), 03.03.2017 (in Ukrainian).
2. Martynenko N.A. 2002. Prichyny preduprezhdenija mertvorozhdaemosti u svinomatok. – *Causes of preventing stillbirth in sows*. Visnik PDAA. 5(6):122-129 (in Ukrainian)
3. Kvasnickij, Aleksej. 1983. Iskusstvennoe osemenenie svinej. – *Artificial insemination of pigs*. K.:Urozhaj (in Ukrainian).
4. Mel'nik, Jurij, vidpovid.2003. Instrukcija iz shtuchnogo osimeninnja svinej.- *Instructions for artificial insemination of pigs*. K.: Agrarna nauka (in Ukrainian).
5. Majer P.K.,1972. Pokazateli kachestva spermy hrjakov-proizvoditelej – *Quality indicators of sperm boars-producers*. Veterinarija. 7:106-108.
6. Voloshchuk, Oleksandr.2017. Otsinka spermy knuriv za dehidrohenaznoyu aktyvnistyu - Evaluation of boar semen for dehydrogenase activity. *Materialy naukovoyi konferentsiyi molodykh vchenykh*, s. Chubyns'ke, Traven' 19 2017 (in Ukrainian).

**Гришина Л.П., Волощук А.В.** Усовершенствование метода оценки качества спермы хряков-производителей

*В статье представлены результаты исследований по изучению спермопродуктивности хряков-производителей крупной белой породы, ландрас и пьетрен. Предложено усовершенствованную методику определения дегидрогеназной активности спермы хряков при разных температурных режимах. Установлено, что дегидрогеназная активность имеет достоверную отрицательную связь с количеством спермиев в эякуляте ( $r = -0,564... -0,6008^{***}$ ) и подвижностью ( $r = -0,554... -0,654^{***}$ ), а также достоверную связь с концентрацией спермиев в 1 мл эякулята ( $r = -0,2889... -0,370^*$ ). Между дегидрогеназной активностью спермы при температуре  $38^{\circ}\text{C}$  и  $18^{\circ}\text{C}$  установлена высокая позитивная корреляция ( $r = 0,852-0,916^{***}$ ), что указывает возможность эффективного использования предложенного метода на практике.*

*Ключевые слова: спермопродукция производителей, концентрация спермы, дегидрогеназная активность, интенсивность дыхания спермиев, терморезистентная проба.*

**Grishina L.P., Voloshchuk O.V.** Improving the method for the valuation of sperm quality of boars

*In this article it is shown the study results of boars' sperm productivity of the Large White breed, Landrace and Pietren. It was proposed an improved method for determining the sperm activity of boars by dehydrogenase at different temperature conditions. It was found that dehydrogenase activity has a negative relationship with a reliable number of spermatozoa in the ejaculate ( $r = -0,564... -0,6008^{***}$ ) and mobility ( $r = -0,554... -0,654^{***}$ ), and small but a reliable connection with the concentration of spermatozoa in 1 ml of ejaculate ( $r = -0,2889... -0,370^*$ ). It was determined the high positive correlation ( $r = 0,852-0,916^{***}$ ) between the dehydrogenase activity of sperm at temperature of  $38^{\circ}\text{C}$  and  $18^{\circ}\text{C}$ ., indicating the possibility of using the proposed method in practice.*

*Key words: sperm production of boars, the concentration of sperm, dehydrogenase activity, respiration intensity of sperm, thermoresistent test.*