

УДК 636.4.0823.453.45

ЦЕХМІСТРЕНКО С.І., д-р с.-г. наук

ПОЛІЩУК С.А., аспірант

ДЕВЕЧА І.О., канд. біол. наук

ПОЛІЩУК В.М., ПОНОМАРЕНКО Н.В., ЦЕХМІСТРЕНКО О.С., кандидати с.-г. наук

*Білоцерківський національний аграрний університет*

**ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ  
І МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ХАРАКТЕРИСТИК  
СПЕРМІЇВ КНУРІВ-ПЛІДНИКІВ ЗА ДІЇ  
КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТУ «МУЛЬТИБАКТЕРІН»**

Показано доцільність застосування багатокомпонентного пробіотичного препарату «Мультибактерін» як стимулятора репродуктивної здатності кнурів-плідників. Доведено, що препарат позитивно впливає на функціонування антиоксидантної системи та морфофункціональні показники сперми. Мультибактерін стимулює антиоксидантні ресурси в організмі, у результаті чого знижується інтенсивність вільнорадикальних процесів та збільшується кількість і активність спермій.

**Ключові слова:** кнурі-плідники, плазма сперми, пероксидне окиснення ліпідів.

**Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій.** Склад ліпідів плазматичної мембрани, яка вкриває спермії ссавців, значно відрізняється від складу ліпідів соматичних клітин. Вона містить значну кількість фосфоліпідів, насичених та поліненасичених жирних кислот і стеринів, тому статеві гамети гіперчутливі до деструктивної дії активних форм кисню (АФО) [11, 12].

У невеликих кількостях АФО необхідні для нормальної регуляції функції спермій, їх гіперактивації та акросомної реакції [10], однак надлишкове продукування АФО призводить до пошкодження мембран, зниження рухливості статевих клітин та порушення запліднювальної здатності [3]. Сім'яники, їх придатки, еякулят та статеві клітини мають антиоксидантну систему захисту (ензими глутатіонового циклу, каталаза, супероксиддисмутаза, вітаміни А, Е, С), яка захищає клітини від деструктивної дії вільних радикалів. У процесі виживання та підготовки до запліднення статеві гамети генерують АФО, які в свою чергу сприяють модифікації мембран при капацитації та забезпечують проникнення спермія в яйцеклітину [10, 11, 14]. У спермі має підтримуватись оптимальний рівень антиоксидантного захисту, який з одного боку забезпечив би фізіологічні функції статевих клітин, а з іншого – не гальмував процесів підготовки спермія до запліднення.

Застосування біостимуляторів нового покоління відкриває можливості реалізації величезного біологічного потенціалу живого організму, закладеного в його генотипі. Яскраво виражена здатність біологічних препаратів збільшувати енергію росту тварин, стійкість до інфекційних захворювань, стресів, дозволяє отримати сільськогосподарську продукцію високої якості та збільшити рентабельність сільського господарства.

До цієї групи препаратів належить вітчизняний комплексний пробіотичний препарат «Мультибактерін», що являє собою біологічний комплекс, який містить лактобактерії (*Lactobacillus acidophilus*) у кількості 10 млн – 1 млрд колонієутворюючих одиниць на грам, хелатний комплекс вітамінів (рибофлавіну, аскорбінової кислоти) та амінокислот (цистеїну, метіоніну) із мікроелементами Цинком, Манганом і Селеном [7].

**Мета** дослідження – виявлення характеру взаємозв'язку вільнорадикальних процесів та морфофункціональних характеристик спермій кнурів-плідників за дії комплексного препарату «Мультибактерін».

**Матеріали та методи дослідження.** Дослідження проводились на кнурах-плідниках великої білої породи та спеціалізованої синтетичної лінії (SS23) віком 2 роки, яких утримували в умовах підприємства ТОВ «Еліта» с. Терезине Білоцерківського району Київської області.

Тварин розподіляли на чотири групи: дві контрольних та дві дослідних по чотири голови у кожній. Кнурам дослідної групи додавали препарат «Мультибактерін», який безпосередньо перед годівлею змішували із комбікормом у дозі 4 мл на голову протягом місяця. Біохімічний

та морфофункціональний стан сперми тварин дослідної групи визначали на 15- та 30-ту добу згодовування препарату. Кнурів утримували в однакових умовах з використанням повноцінного раціону, доступ до корму та води був вільним. Умови утримання відповідали загальнобіологічним вимогам. Режим використання кнурів був помірний, садку проводили 1 раз на тиждень. На підприємстві використовують сухий тип годівлі, тварин годують один раз на день, вода без обмежень. У біологічних зразках визначали вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів: гідропероксиди ліпідів (ГПЛ) [5], дієнові кон'югати (ДК) [6] та тіобарбітурат-реагуючі продукти (ТБК-РП) [1], фактор антиоксидантного захисту [8], активність ферментів антиоксидантної системи захисту: супероксиддисмутаза (СОД) [9], каталаза (КАТ) [4] та вміст церулоплазміну (ЦП) [13]. Проводили оцінку еякулятів із визначенням об'єму, концентрації, рухливості та виживаності сперміїв за загальноприйнятими методиками. Результати дослідження обробляли статистично із застосуванням t-критерію Стьюдента, та з використанням пакету прикладних програм для обробки медичної та біологічної інформації Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Дослідження плазми сперми кнурів-плідників показали, що при застосуванні препарату «Мультибактерін» інтенсивність вільнорадикальних процесів знижується, про що свідчить зменшення кількості первинних і вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів (табл. 1).

Так, на 15 добу згодовування препарату «Мультибактерін» у плазмі сперми кнурів-плідників відмічається тенденція до зниження вмісту ГПЛ, кнурів великої білої породи на 10,5 %, кнурів синтетичної лінії SS23 – на 15,6 % порівняно з показниками контрольної групи. На 30 добу згодовування препарату концентрація гідропероксидів ліпідів вірогідно ( $p < 0,05$ ) знижується. Подібна динаміка проявляється і за вмістом дієнових кон'югатів ненасичених жирних кислот. Мультибактерін сприяє вірогідному зниженню ( $p < 0,05$ ) вмісту ДК у плазмі сперми кнурів-плідників обох порід.

Таблиця 1– Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі сперми кнурів-плідників за дії препарату «Мультибактерін» ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )

Група тварин	ГПЛ, ум.од./мл	ДК, ум.од./мл	ТБК-РП, нмоль/мл	Фактор АОС
До введення				
Контроль Велика біла	3,16 ± 0,15	0,20 ± 0,02	3,63 ± 0,33	115,58 ± 5,79
Дослід Велика біла	3,41 ± 0,17	0,18 ± 0,01	3,44 ± 0,27	107,03 ± 7,44
Контроль SS23	3,12 ± 0,19	0,23 ± 0,01	3,85 ± 0,35	72,13 ± 2,92
Дослід SS23	2,75 ± 0,20	0,21 ± 0,02	3,74 ± 0,31	50,16 ± 5,11
Через 15 діб після додавання препарату				
Контроль Велика біла	3,13 ± 0,24	0,46 ± 0,03	1,52 ± 0,06	170,87 ± 15,02
Дослід Велика біла	2,80 ± 0,18	0,18 ± 0,01*	1,39 ± 0,07	148,41 ± 14,74
Контроль SS23	3,45 ± 0,23	0,49 ± 0,04	1,54 ± 0,09	126,75 ± 12,52
Дослід SS23	2,91 ± 0,27	0,15 ± 0,01*	1,20 ± 0,09*	115,86 ± 11,50
Через 30 діб після додавання препарату				
Контроль Велика біла	2,56 ± 0,08	0,38 ± 0,02	2,09 ± 0,16	71,82 ± 6,89
Дослід Велика біла	0,84 ± 0,05*	0,27 ± 0,02*	1,65 ± 0,09	56,03 ± 9,10
Контроль SS23	3,18 ± 0,05	0,40 ± 0,04	1,73 ± 0,15	71,27 ± 5,36
Дослід SS23	0,69 ± 0,06*	0,17 ± 0,01*	1,58 ± 0,09	66,92 ± 2,85

**Примітка.** Результати вірогідні відносно кнурів-плідників великої білої породи при \* –  $p < 0,05$ .

Застосування комплексного пробіотичного препарату викликає зсув у балансі реакцій вільнорадикального окиснення, що виражається у зниженні кількості ТБК-РП. Концентрація тіобарбітурат-реагуючих продуктів у плазмі сперми кнурів-плідників вірогідно знижується вже на 15 добу після згодовування препарату. Протягом досліджуваного періоду проявляється тенденція до зниження фактора антиоксидантного стану. Це інтегрований показник, що дає уявлення про загальні тенденції зрушення окисно-відновної рівноваги в живому організмі у бік відновлення.

Вміст церулоплазміну, активність ферментів антиоксидантної системи захисту в плазмі сперми дослідних груп до введення препарату статистично не відрізнялись від показників у контрольній групі (табл. 2).

Таблиця 2 – Активність ферментів системи антиоксидантного захисту в плазмі сперми кнурів-плідників за дії препарату «Мультибактерін» ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )

Група кнурів	СОД, ум.од./мл	КАТ, мкат/мл	ЦП, мкг/мл
До введення			
Контроль Велика біла	1,06 ± 0,06	393,61 ± 19,52	75,69 ± 0,25
Дослід Велика біла	0,92 ± 0,04	397,6 ± 29,27	69,56 ± 0,25
Контроль SS23	1,15 ± 0,10	241,09 ± 13,25	72,63 ± 3,22
Дослід SS23	0,96 ± 0,04	194,47 ± 24,97	74,38 ± 4,75
Через 15 дів після додавання препарату			
Контроль Велика біла	0,74 ± 0,05	347,65 ± 11,83	102,38 ± 2,11
Дослід Велика біла	0,67 ± 0,04	307,69 ± 28,72	85,09 ± 3,34*
Контроль SS23	0,51 ± 0,04	377,62 ± 2,95	99,75 ± 3,81
Дослід SS23	0,53 ± 0,03	251,75 ± 23,19*	87,72 ± 4,17
Через 30 дів після додавання препарату			
Контроль Велика біла	0,62 ± 0,02	189,38 ± 11,52	101,72 ± 1,76
Дослід Велика біла	0,70 ± 0,04	159,84 ± 11,86	105,22 ± 1,92
Контроль SS23	0,68 ± 0,03	186,55 ± 14,22	105,66 ± 1,15
Дослід SS23	0,71 ± 0,03	163,17 ± 10,94	111,34 ± 2,91

При застосуванні Мультибактеріну статистично значущої різниці в активності супероксиддисмутази не реєстрували, проявляється лише тенденція до її зростання. Таке підвищення активності ферменту можна пояснити наявністю у препараті мікроелементів Цинку та Мангану.

Активність каталази в спермі кнурів обох досліджуваних груп після згодовування препарату знижується. Така тенденція можливо проходить за рахунок включення у механізми антиоксидантної відповіді інших захисних систем організму.

За дії препарату «Мультибактерін» в плазмі сперми кнурів-плідників зростає вміст важливого антиоксиданту – церулоплазміну. Цей специфічний білок належить до купрумвмісного сироваткового антиоксиданту, за допомогою пари іонів  $Cu^{2+}$  здійснює відновлення супероксиду аніона до води без утворення пероксиду гідрогену [2].

Порівняльний аналіз продуктивності кнурів-плідників великої білої породи та синтетичної лінії SS23 показав, що найбільший об'єм еякуляту отримували від тварин дослідної групи на 30-тий день додавання препарату (табл. 3). Цей показник зріс на 5,0 та 4,7 % відповідно, порівняно з контролем.

Таблиця 3– Вплив Мультибактеріну на морфофункціональні показники якості сперми кнурів-плідників великої білої породи ( $M \pm m$ ;  $n=4$ )

Показник	Кнури-плідники великої білої породи					
	до введення препарату		на 15 добу після дачі препарату		на 30 добу після дачі препарату	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Об'єм еякуляту, мл	302,5 ± 2,84	300,4 ± 2,41	301,5 ± 2,84	309,7 ± 3,19	302,6 ± 2,84	317,8 ± 1,11*
Концентрація спермій, млн/мл	324,8 ± 5,91	327,8 ± 7,11	326,2 ± 5,91	335,3 ± 2,72	327,1 ± 5,91	349,3 ± 19,03
Рухливість спермій, бали	8,8 ± 0,25	8,9 ± 0,62	8,7 ± 0,25	9,1 ± 0,21	8,9 ± 0,25	9,7 ± 0,13*
Вживаність спермій, год/бал	7,3 ± 0,16	7,5 ± 0,21	7,2 ± 0,16	8,1 ± 0,07*	7,5 ± 0,16	8,7 ± 0,19*
Кількість спермодоз	13,1 ± 0,55	14,2 ± 0,74	12,3 ± 0,99	15,8 ± 0,63*	13,7 ± 0,85	16,9 ± 1,03
% заплідненості	91,3 ± 0,85	92,4 ± 0,77	90,3 ± 0,92	94,2 ± 1,30*	93,3 ± 1,19	97,8 ± 1,45

Оцінка якості сперми дозволяє з високою ймовірністю визначити не придатні до запліднення еякуляти, встановити фізіологічні межі коливань окремих показників у кожного кнура, що дає змогу вчасно діагностувати та усувати причини погіршення якості сперми й зниження її запліднювальної здатності.

Додавання Мультибактеріну кнурам-плідникам позитивно впливає на якісні показники сперми. Спостерігали зростання кількості, рухливості, виживаності спермій відповідно на 6,7, 9,0 та 16,0 % порівняно з тваринами контрольної групи. Подібну динаміку простежували і в кнурів синтетичної лінії (табл. 4).

Оцінка рухливості та концентрації спермій відіграє вирішальне значення під час обчислення необхідного ступеня розбавлення сперми. Регулярні дослідження рухливості спермій надають інформацію щодо потенціалу до запліднювальної здатності сперми та індивідуальних особливостей тварин.

Таблиця 4 – Вплив Мультибактеріну на морфофункціональні показники якості сперми кнурів-плідників синтетичної лінії SS23 (M±m; n=4)

Показник	Кнури-плідники синтетичної лінії (SS23)					
	до введення препарату		на 15 добу після дачі препарату		на 30 добу після дачі препарату	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Об'єм еякуляту, мл	282,5 ± 4,17	283,7 ± 3,72	283,5 ± 4,17	288,0 ± 1,92	282,9 ± 4,17	296,3 ± 3,93
Концентрація спермій, млн/мл	284,5 ± 8,79	286,9 ± 5,66	283,3 ± 8,79	296,0 ± 3,24	285,7 ± 8,79	304,5 ± 3,71
Рухливість спермій, бали	8,7 ± 0,24	8,8 ± 0,32	8,6 ± 0,24	9,2 ± 0,11	8,8 ± 0,24	9,8 ± 0,38
Виживаність спермій, год/бал	7,4 ± 0,22	7,6 ± 0,17	7,6 ± 0,22	8,2 ± 0,15	7,5 ± 0,22	8,6 ± 0,41
Кількість спермодоз	13,2 ± 0,64	14,3 ± 0,62	13,8 ± 0,32	15,0 ± 0,41	14,1 ± 0,71	17,8 ± 0,47*
% заплідненості	90,5 ± 0,64	91,6 ± 0,89	91,5 ± 0,64	94,8 ± 1,55	94,1 ± 1,20	98,6 ± 1,65

Додавання досліджуваного препарату кнурам-плідникам великої білої породи дало змогу збільшити запліднювальну здатність їх сперми з 93,3 до 97,8 % за першого осіменіння, тобто на 4,8 %. Водночас кількість спермодоз зросла на 23,4 % порівняно з контролем. Відсоток заплідненості сперми кнурів-плідників синтетичної лінії зріс з 94,1 до 98,6 %, кількість спермодоз зросла на 26,2 %.

**Висновок.** Результати досліджень показують, що додавання препарату біокомплексної дії плідникам забезпечує поліпшення показників якості сперми та збільшення спермодоз за період дослідження. Це дає можливість одержати додатковий прибуток та підвищити рентабельність спермопродукції. Згідно з результатами розрахунків, з урахуванням реалізаційної ціни (на 2010 р.) однієї спермодози та вартості препарату, економічний ефект на одного кнура від реалізації сперми при згодовуванні пробіотику буде становити 415,2 грн.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобабутировой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–44.
2. Барабой В.А. Биоантиоксиданты / Вилен Абрамович Барабой. – К.: Книга плюс, 2006. – 462 с.
3. Громенко Д.С. Применение наукоемких технологий для оценки фертильности мужчин / Д.С. Громенко // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. Т. 15. – № 4. С. 118–120.
4. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, А.И. Иванова, И.Т. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Романова Л.А. Метод определения гидроперекисей липидов с помощью тиоцианата аммония / Л.А. Романова, И.Д. Стальная // Современные методы в биохимии; под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 64–66.
6. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И.Д. Стальная // Современные методы в биохимии; под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64.
7. Цехмістренко С.І. Рекомендації щодо застосування біокомплексного препарату для підвищення показників якості сперми кнурів-плідників / Цехмістренко С.І., Поліщук С.А., Радзівілова Ю.О. та ін. – Біла Церква: Вид-во БНАУ, 2011. – 17 с.
8. Чевари С. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
9. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
10. Aitken R. Relative impact of oxidative stress on the functional competence and genomic integrity of human spermatozoa / R. Aitken, E. Gordon, D. Harkiss et al. // Biol. Reprod. – 1998. – V. 59. – P. 1037–1046.
11. Chen X.L. Antioxidative activity and protective effect of probiotics against high-fat diet-induced sperm damage in rats / X.L. Chen, L.Z. Gong, J.X. Xu // Animal. – 2013. – V 7(2). P. 287–292.
12. Loft S. Oxidative DNA damage in human sperm influences time to pregnancy / S. Loft, T. Kold-Jensen, N. Hjollund et al. // Hum. Reprod. – 2003. – V. 18. – № 6. – P. 1265–1272.
13. Ravin H.A. Secretion of digestive enzyme by pancreas with minimal transit tissue / H.A. Ravin // J. Lab. Clin. Med. – 1961. – V. 58. – P. 161–168.
14. Sanocka D. Reactive oxygen species and sperm cells / D. Sanocka, M. Kurpisz // Reproductive Biology and Endocrinology. – 2004. – V. 2. № 12. – P. 12–26.

#### Взаимосвязь свободнорадикальных процессов и морфофункциональных характеристик сперматозоидов хряков-производителей при действии комплексного препарата «Мультибактерин»

**С.И. Цехмістренко, С.А. Поліщук, І.А. Девеча, В.Н. Поліщук, Н.В. Пономаренко, О.С. Цехмістренко**

Представлены результаты исследования процессов перекисного окисления липидов в семенной жидкости хряков-производителей крупной белой породы и синтетической линии SS23 под воздействием комплексного пробиотического препарата «Мультибактерин». Полученные данные свидетельствуют о благоприятном влиянии Мультибактерина на антиоксидантную систему организма, морфофункциональные показатели спермы. Препарат стимулирует антиоксидантные ресурсы в организме, в результате чего снижается интенсивность свободнорадикальных процессов и

увеличивается количество и активность сперматозоидов.

**Ключевые слова:** хряки-производители, плазма спермы, перекисное окисление липидов.

**The relationship between free radical processes and morphofunctional characteristics of hog's sperm under the action of complex preparation "Multybakteryu"**

**S. Tsekhmistrenko, S. Polischuk, I. Devecha, V. Polischuk, N. Ponomarenko, O. Tsekhmistrenko**

The article presents the results of a study of lipid peroxidation in semen breeding boars of Large White breed and synthetic line SS23 under the influence of a complex probiotic "Multibakterin." The findings suggest the beneficial effect of "Multibakterin" on the antioxidant system of the body, morphological and functional parameters of sperm. Preparation stimulates antioxidant resources in the body, thereby reducing the intensity of free radical processes and increases the number and activity of sperm. The results show that the addition of the drug "Multibakterin" nursery provides better quality sperm and increase sperm doses for experimental period. This makes it possible to obtain more revenue and increase profitability semen. Economic effect on a boar from the sale of semen during probiotic feeding rate will be 415.2 UAH.

**Key words:** breeding boars, semen, lipid peroxidation.