

УДК 636.4:612.8  
© 2017

**А.М. ШОСТЯ,**  
доктор сільськогосподарських наук

**В.О. РОКОТЯНСЬКА,**  
аспірант

**В.Г. ЦИБЕНКО,  
М.П. СОКИРКО,**  
кандидати сільськогосподарських наук

Інститут свинарства  
і агропромислового виробництва  
НААН, Україна  
E-mail: Rokotianska@ukr.net  
вул. Шведська Могила, 1, м. Полтава

ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСІВ  
ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ  
В СПЕРМІ КНУРІВ-ПЛІДНИКІВ  
ЗАЛЕЖНО ВІД ПОРИ РОКУ  
ТА ІНТЕНСИВНОСТІ  
ЇХ ВИКОРИСТАННЯ

*Висвітлено експериментальні дані досліджень щодо особливостей перебігу процесів пероксидного окиснення в спермі кнурів-плідників залежно від пори року та інтенсивності використання. Встановлено, що найкращими показниками спермопродукції характеризуються тварини у весняний період. У літній період якість сперми в кнурів-плідників вірогідно знижується. Такі зміни супроводжуються істотним зниженням активності каталази на 30,6 % ( $p < 0,01$ ) та суттєвим накопиченням умісту ТБК-активних комплексів на 46,9 % ( $p < 0,01$ ). Якість спермопродукції кнурів-плідників перебуває в істотній залежності від режиму їх використання. Виявлено, що підвищення інтенсивності використання кнурів двічі на тиждень не сприяє суттєвому прискоренню процесів пероксидації.*

**Ключові слова:** сперма, кнури, спермопродукція, пероксидне окиснення, ТБК-активні комплекси.

У вирішенні проблеми забезпечення населення України м'ясом суттєву роль відіграє галузь свинарства. Дієвим важелем у нарощуванні поголів'я свиней є широке впровадження ефективних методів штучного осіменіння, що вимагає створення оптимальних умов годівлі й утримання кнурів-плідників для забезпечення реалізації генетичного потенціалу та максимальної їх тривалості використання [3].

Удосконалення систем інтенсивного використання кнурів-плідників і забезпечення високого рівня спермопродукції дає змогу істотно скоротити їх кількість у стаді та зменшити витрати кормів, що сприяє зниженню

собівартості отриманої продукції [5]. Однак якість спермопродукції кнурів-плідників перебуває в істотній залежності від їх статевого навантаження, віку та умов годівлі.

Інтенсивне використання кнурів для штучного осіменіння свиней вимагає більш раннього віку їх введення в основне стадо [6].

Найбільш чутливими до змін умов утримання та годівлі у кнурців є спермії, особливо їх плазматичні мембрани, які вкривають акросому, хвіст (велика кількість ненасичених жирних кислот, значна ліпідна течія) та цитоплазму (низька концентрація антиоксидантних ферментів) [8]. Встановлено, що в сперміях людини за штучного стиму-

лювання пероксидного окиснення кількість ТБК-активних сполук зростає з паралельним зниженням їх рухливості  $r = -0,62$ . Така закономірність викликана деструктивними змінами мембран цих клітин. Ряд дослідників вважають, що рухливість і патологічні зміни в сперміях тісно пов'язані з пероксидацією ліпідів, а рівень ТБК-активних сполук може стати інформативним біохімічним індексом якості гамет [7, 8, 11].

Доведено, що вміст відновленого глутатіону у великій кількості знаходиться в сім'яній плазмі фертильних та нефертильних тварин. При цьому рівень глутатіону та вітаміну С завжди є вищим у спермі з високою запліднюючою здатністю [9]. Встановлено істотну кореляцію між вмістом глутатіону в плазмі і рухливістю спермій ( $r = 0,50$ ) [10]. Введення аскорбінової кислоти та глутатіону до складу розріджувача сперми бугаїв підвищує здатність спермій до запліднення [4]. Й тепер залишається актуальним дослідження змін кількісних і якісних показників спермопродукції залежно від впливу різних факторів.

**Метою даної роботи** було встановити особливості процесів пероксидного окиснення в спермі кнурів-плідників залежно від пори року та інтенсивності їх використання.

**Матеріали і методи досліджень.** Роботи проведені в умовах лабораторії фізіології відтворення Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН України, племінного заводу з розведення свиней великої білої породи ДП ДГ "Степне" ІС і АПВ НААНУ. Для дослідів відібрані 10 дорослих кнурів-плідників великої білої породи ві-

ком від 18 до 36 місяців – аналогів за якістю спермопродукції. Кнурів-плідників годували згідно з нормами ІС і АПВ НААНУ. Основні показники якості сперми: масу еякуляту, концентрацію спермій в 1 см<sup>3</sup> та загальну кількість спермій в еякуляті, рухливість спермій та терморезистентну пробу визначили за загальноприйнятими методиками, згідно з Інструкцією зі штучного осіменіння свиней [4]. Визначення активності каталази проводили за методикою з використанням ванадій-молібдатної реакції [2], для встановлення кількості тіобарбітурат-активних комплексів (ТБК-активних комплексів) застосовували тіобарбітурову кислоту. Вміст аскорбінової і дегідроаскорбінової кислот визначали фотометрично [1].

Отриманий цифровий матеріал статистично опрацьовували за допомогою програми Statistica для Windows XP. Після порівняння досліджуваних показників та їхніх міжгрупових різниць використовували *t*-критерій Стьюдента, а результат вважали вірогідним після  $p < 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** Отримані дані свідчать про те, що якісні та кількісні показники спермопродукції у кнурів-плідників суттєво залежать від пори року (табл. 1). Так, максимальною масою еякуляту характеризувалися досліджувані тварини навесні. Важливо відмітити, що в літній та осінній періоди маса еякуляту була меншою порівняно з весняним відповідно на 11,5 % ( $p < 0,05$ ) та 10,3 %. При цьому з настанням зимового періоду даний показник зростає відносно мінімального рівня в літній період на 6,2 %.

**1. Вплив пори року на фізіологічні показники якості спермопродукції у кнурів-плідників ( $M \pm m$ ),  $n = 80$**

Пора року	Маса еякуляту, г	Концентрація спермій, млн / см <sup>3</sup>	Загальна кількість спермій, млрд	Рухливість спермій, %	Вживаність спермій, %
Весна	285,28±10,63	210,43±7,29	50,82±1,64	85,06±1,07	75,06±0,98
Літо	252,28±11,38*	153,32±3,53**	40,70±1,92***	78,00±1,58***	65,00±1,85***
Осінь	255,87±11,86	162,56±4,93**	41,66±2,17***	79,93±1,11***	70,75±1,05*
Зима	268,82±12,23	168,06±8,4**	55,51±8,11	83,06±1,01	73,00±1,10

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  – порівняно з даними весняного періоду.

Максимальна концентрація спермій в еякулятах кнурів встановлена навесні. Проте підкреслимо, що влітку та восени концентрація спермій була меншою, ніж навесні, відповідно в 1,37 ( $p < 0,001$ ) та 1,3 рази ( $p < 0,01$ ). Із настанням зими даний показник зростав порівняно з мінімальним рівнем у літній період на 8,7 %. Максимальною кількістю спермій в еякулятах характеризувалися кнури в зимовий період. Цей показник був меншим у літній та осінній періоди відносно зимового відповідно на 26,67 % ( $p < 0,001$ ) та 24,95 % ( $p < 0,001$ ). Із настанням весни він зростав порівняно з мінімальним рівнем у літній період на 19,9 %. В еякулятах кнурів максимальна рухливість спермій реєструвалася навесні та взимку. Однак у літній та осінній періоди рухливість спермій знизилася порівняно з весняним на 8,3 та 6,03 % відповідно. Узимку рухливість зростала відносно мінімального рівня в літній період на 6,09 %.

Одним з важливих показників якості сперми, який визначають використовуючи терморезистентну пробу, є виживаність спермій поза організмом кнура. Встановлено, що найвищою вона спостерігалася у кнурів навесні. Улітку та восени виживаність спермій була меншою на 13,40 % ( $p < 0,001$ ) та 5,74 % ( $p < 0,05$ ) відповідно. Із настанням зими даний показник зростав порівняно з літнім періодом (мінімальний рівень) на 11 %.

Експериментальні дані свідчать про те, що якість спермопродукції кнурів-плідників залежить і від впливу пори року, і від інтенсивності їх навантаження (табл. 2). Так, режим однієї садки кнура на чучело протягом тижня сприяє збільшенню маси еякуляту. Взяття сперми від кнура двічі на тиждень

зменшує його масу на 9,75 % , а триразовий режим – на 16,5 % відносно одноразового.

Порівняльний аналіз даних концентрацій спермій в еякулятах підтверджує, що відносно дворазового режиму взяття сперми від кнурів за одноразового цей показник вищий на 10,23 %, а за триразового режиму сперма була більш розрідженою на 20,93 %.

Одноразовий режим отримання сперми сприяє збільшенню загальної кількості спермій в еякуляті. Використання дво- та триразового режимів отримання сперми знижує цей показник відповідно в 1,2 та 1,5 рази.

Встановлено також суттєвий вплив режиму використання кнурів на рухливість спермій; найвища активність спостерігалася за одноразового, а вірогідно найнижча – за триразового отримання сперми. Проте виживаність спермій зафіксована максимальною у випадку статевого навантаження двічі на тиждень, що на 15,9 % ( $p < 0,05$ ) більше порівняно з інтенсивністю використання один раз та на 22,5 % ( $p < 0,001$ ), ніж тричі на тиждень.

Зі зміною фізіологічних показників спермопродукції протягом року перебіг процесів пероксидного окиснення здійснювався неоднаково (табл. 3). Так, активність каталази в спермі кнурів була максимальною весною. Відзначимо, що активність даного ензиму була меншою в літній в 1,4 ( $p < 0,001$ ), осінній – 1,2 ( $p < 0,001$ ) та зимовий – в 1,5 рази ( $p < 0,001$ ) порівняно з весняним періодом.

Уміст відновленого глутатіону в досліджуваній тканині був найнижчим улітку та восени, а максимальних значень досягав узимку. Співвідношення концентрацій аскорбінових кислот істотно змінювалося протягом року. У літню та осінню пори

**2. Вплив режиму використання кнурів-плідників на якість спермопродукції залежно від статевого навантаження ( $M \pm m$ ),  $n = 80$**

Режим використання на тиждень	Маса еякуляту, г	Концентрація спермій, млн/см <sup>3</sup>	Загальна кількість спермій, млрд	Рухливість спермій, %	Переживаність спермій, %
1 раз	273±11,44	215±6,58	57,43±2,65	87,25±0,98	67,3±0,85 *
2 рази	246,9±10,52	193±5,82	46,89±2,08	86,43±0,87	80,05±0,92
3 рази	228,45±12,31	170±5,88	39,19±2,49	81,64±0,75**	62,00±1,11***

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  – порівняно з дворазовим стандартним режимом.

**3. Вплив пори року на пероксидне окиснення в спермі кнурів-плідників ( $M \pm m$ ),  $n = 80$**

Пора року	Активність каталази, мМ/хв/г білка	Вміст, мкмоль/л				
		відновленого глутатіону	аскорбінової кислоти	дегідроаскорбінової кислоти	ТБК-активних комплексів	ТБК-активних комплексів після інкубування
Весна	13,72±0,52	0,265±0,036	9,81±0,79	6,32±0,58	19,22±0,73	23,13±0,20
Літо	9,52±0,53**	0,246±0,023	5,62±0,26	12,42±0,27	28,24±0,42**	36,05±0,61***
Осінь	11,34±0,48*	0,204±0,052	10,61±0,40	8,05±0,27	22,23±0,57	26,44±0,73*
Зима	9,11±0,13**	0,403±0,017	8,14±0,55	11,15±0,63	25,23±0,76*	29,74±0,59**

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  – відносно весняного періоду.

року виявлено переважання кількості окисненої форми аскорбіної кислоти над відновленою.

Вміст ТБК-активних комплексів був мінімальним навесні, будучи нижчим за рівень, встановлений літом – 46,9 %, восени – 15,6 % і зимою – 31,2 %. Інтенсивність утворення ТБК-активних комплексів у спермі кнурів в умовах залізо-аскорбатного буфера влітку була вищою, ніж у весняний період, на 55,8 %, що свідчить про виснаження системи антиоксидантного захисту в даній тканині.

Виявлено, що режим використання кнурів-плідників суттєво впливає на процеси пероксидного окиснення в спермі (табл. 4). Так, активність каталази була відносно середньою за отримання сперми кнурів двічі на тиждень, проте вищою в 1,1 раза ( $p < 0,001$ ) за одноразового її взяття та нижчою в 1,28 раза ( $p < 0,001$ ) за триразового відбору на тиждень.

Дворазовий режим отримання сперми супроводжувався максимальним насиченням цієї танини кількістю відновленого глутатіону та аскорбіновими кислотами.

Уміст ТБК-активних комплексів був максимальним у режимі використання кнурів один раз на тиждень. Взяття сперми за двота триразового режиму призводило до зниження вмісту ТБК-активних комплексів, що напевно обумовлено розрідженням сперми кнурів. Наголосимо, що в умовах інкубування цієї тканини в залізо-аскорбатному буфері на тлі підвищеного режиму статевого використання спостерігається зниження інтенсивності накопичення вмісту ТБК-активних комплексів від 29,32 до 20,42 мкмоль/л. За одного та триразового режимів отримання сперми кнурів уміст ТБК-активних комплексів підвищувався на 36–38 %.

З метою встановлення взаємозв'язку як між показниками якості спермопродукції,

**4. Вплив режиму використання кнурів-плідників на процеси пероксидного окиснення в спермі ( $M \pm m$ ),  $n = 80$**

Режим використання на тиждень	Активність каталази, мМ/хв/г білка	Вміст, мкмоль/л				
		відновленого глутатіону	аскорбінової кислоти	дегідроаскорбінової кислоти	ТБК-активних комплексів	ТБК-активних комплексів після інкубування
1 раз	9,99±1,65*	0,389±0,029	14,96±0,74	12,6±0,67	18,62±0,7	29,32±0,65**
2 рази	8,92±0,50	0,407±0,046	18,95±0,79	15,83±0,44	16,22±0,65	21,03±1,12
3 рази	6,92±0,39***	0,370±0,044	13,87±0,61	9,2±0,54	12,49±0,65	20,42±0,55

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  – порівняно з дворазовим режимом отримання спермопродукції.

так і компонентами прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в спермі кнурів було розраховано та порівняно величини коефіцієнтів кореляції ( $r$ ) залежно від пори року та режиму їх використання.

Дані проведеного статистичного аналізу кореляції між фізіологічними показниками якості спермопродукції є кнурів великої білої породи свідчать про існування суттєвих позитивних зв'язків у весняну пору року, тобто між масою еякуляту і кількістю спермій ( $r = 0,56$ ;  $p < 0,001$ ), рухливістю та виживаністю ( $r = 0,88$ ;  $p < 0,001$ ).

Встановлено істотний взаємозв'язок між умістом ТБК-активних комплексів та масою еякуляту, що становив  $r = 0,46$  за умови одноразового режиму взяття сперми. Зі збільшенням статевого навантаження на кнурів-плідників концентрація ТБК-активних комплексів істотно корелювала з кількістю спермій ( $r = 0,30$ ) та їх рухливістю ( $r = 0,87$ ). Це доводить, що фізіолого-біохімічні показники якості спермопродукції взаємопов'язані між собою, а їх рівень зв'язку здебільшого залежить від пори року та інтенсивності навантаження на кнурів-плідників.

### **Висновки**

1. Встановлено, що залежно від сезону року якісні та кількісні показники спермопродукції кнурів-плідників змінюються. Найвищими значеннями спермопродукції характеризуються тварини у весняний період. Улітку якість сперми в кнурів-плідників вірогідно знижується: маса еякуляту на 11,5 %, концентрація спермій на 27,1 %, загальна кількість спермій – на 26,7 %, рухливість спермій – 8,3 % та їх виживаність – на 13,4 %. Такі зміни супроводжуються істотним зниженням активності каталази та суттєвим накопиченням умісту ТБК-активних комплексів. Проте з настанням зимового періоду біологічна повноцінність отримуваних еякулятів від кнурів-плідників підвищується.

2. Якість спермопродукції кнурів-плідників перебуває в істотній залежності від режиму їх використання. Виявлено, що підвищення інтенсивності використання кнурів (два та три рази на тиждень) призводить до зниження маси еякуляту, концентрації спермій, а також їх рухливості. Однак виживаність спермій за дворазового режиму використання кнурів стає істотно вищою, ніж за одноразове та триразове отримання сперми, що очевидно обумовлено вищою ємністю системи антиоксидантного захисту.

Подальші дослідження будуть спрямовані на розроблення ефективних методів покращення якості спермопродукції у кнурів-плідників.

### **Бібліографія**

1. Кайдашев І.П. Посібник з експериментально-клінічних досліджень з біології та медицини / І.П. Кайдашев. – Полтава, 1996. – С. 123–128.  
2. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, Е.В. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.  
3. Кравченко О.О. Породні особливості сперматогенезу та спермопродукції кнурів-плідників / О.О. Кравченко // Аграрний вісник Причорномор'я. Сільськогосподарські і біологічні науки. – Одеса, 2005. – Вип. 31. – С. 20–29.  
4. Мельник Ю.Ф. Інструкція зі штучного осіменіння свиней / Ю.Ф. Мельник. – К.: Аграрна наука, 2003. – 56 с.  
5. Окснюк А.Н. Порівняльне вивчення якісних особливостей кнурів різних генотипів при вирощуванні в умовах елевелу: дис. ... канд. с.-г. наук: 06.02.01 / А.Н. Окснюк. – Полтава, 1998. – 185 с.  
6. Остапів Д.Д. Окисно-відновні процеси в статевих клітинах бугаїв і корів, способи оцінювання якості та підвищення запліднюваності: автореф. дис. на здобуття наукового ступеня докт. с.-г. наук: спец. 03.00.13 "Фізіологія людини і тварин" / Д.Д. Остапів. – Львів, 2008. – 39 с.

7. Gogol P. Ferrous Ion Induced Photon Emission as a Method to Quantify Oxidative Stress in Stored Boar Spermatozoa / P. Gogol, M. Piezka // Folia biologica. – Kraków, 2008. – Vol. 56, № 3–4. – P. 173–177.  
8. Hsieh Y.Y. Seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility / Y.Y. Hsieh, C.C. Chang, C.S. Lin // Int J Biol Sci. – 2006. – Vol. 2(1). – P. 23–29.  
9. Lewisa S.E.M. Comparison of individual antioxidant of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men / S.E.M. Lewisa, E.S.L. Sterlina, I.S. Younga // Fertility and Sterility. – 1997. – Vol. 67, issue 1. – P. 142–147.  
10. Glutathione and glutathione S-transferases A1–1 and P1–1 in seminal plasma may play a role in protecting against oxidative damage to spermatozoa / T.M. Maarten, M.S. Raijmakers, M.J. Hennie [et al.] // Fertility and Sterility. – 2003. – Vol. 79, issue 1. – P. 169–172.  
11. Lipid peroxidation in human spermatozoa as related to midpiece abnormalities and motility / B. Rao, J.C. Soufir, M. Martin [et al.] // Gamete Res. – 1989. – Vol. 24(2). – P. 127–134.