

## ЯКІСТЬ ДЕКОНСЕРВОВАНОЇ СПЕРМИ БУГАЇВ ЗА ДОДАВАННЯ У РОЗРІДЖУВАЧ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ У СКЛАДІ N-ПОХІДНОЇ ПЕГ400

І. М. Яремчук<sup>1</sup>, канд. с.-г. наук,  
М. М. Шаран<sup>1</sup>, Д. Д. Остапів<sup>1</sup>, д-р с.-г. наук,  
С. Б. Корнят<sup>1</sup>, А. Р. Корбецький<sup>1</sup>, канд. с.-г. наук,  
О. Б. Андрушко<sup>1</sup>, О. І. Чайковська<sup>2</sup>, Р. Д. Остапів<sup>2</sup>, канд. біол. наук,  
С. М. Варваренко<sup>3</sup>, д-р х. наук,  
М. В. Ференс<sup>3</sup>, аспірант,  
В. Я. Самарик<sup>3</sup>, д-р х. наук,  
Н. Г. Носова<sup>3</sup>, Н. В. Фігурка<sup>3</sup>, канд. х. наук,  
І. А. Дронь<sup>3</sup>, н. с.

<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН,  
вул. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна  
[oddost@ukr.net](mailto:oddost@ukr.net)

<sup>2</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів  
та кормових добавок  
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна  
[alexandra.dndki@gmail.com](mailto:alexandra.dndki@gmail.com)

<sup>3</sup>Національний університет „Львівська політехніка”  
вул. С. Бандери, 12, Львів, 79013, Україна

Метою досліджень було вивчити дію комплексів мікроелементів у складі N-похідної ПЕГ400 у розрідженій спермі на фізіолого-біохімічні характеристики спермійв розморожених еякулятів бугаїв. Для оцінювання дії комплексів мікроелементів ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  та  $\text{Mn}^{2+}$ ) у складі N-похідної ПЕГ400 відібрані еякуляти бугаїв об'ємом 2 – 5 мл, концентрацією -  $0,7 - 1,2 \times 10^9$  клітин/мл та активністю спермійв 7,0 – 8,0 балів. Сперму, розріджену лактозо-жовтково-гліцеринним розріджувачем, ділили на частини: контрольну – без додавання та дослідні з додаванням N-похідної ПЕГ400 (N-ПЕГ400) з вмістом в 1 мл розчину:  $\text{Zn}^{+2}$  - 0,0319 ммоль;  $\text{Cu}^{+2}$  - 0,0222 ммоль;  $\text{Mn}^{+2}$  - 0,0359 ммоль. У дослідні зразки сперми додавали 0,01 мл розчинів мікроелементів у складі полімеру в мл розрідженого еякуляту. У зразках розрідженої сперми визначали виживання спермійв, динамічні показники, дихальну активність, активність ензимів-маркерів запліднювальної здатності спермійв – сукцинатдегідрогенази (СДГ) та цитохромоксидази (ЦХО).

Встановлено, що оптимальним часом еквілібрації сперми за присутності в розріджувачі мікроелементів у складі N-похідних ПЕГ400 є 2,5 год. При цьому, активність спермійв за присутності N-похідних ПЕГ400 залежить від експозиції спермодоз над парами азоту і здатності мікроелементів впливати на обмінні процеси в сперміях. Найвищі величини значень динамічних показників спермійв характерні для деконсервованої сперми за додавання у середовище розбавлення  $\text{Zn}^{+2}$  та  $\text{Mn}^{+2}$ N-похідних ПЕГ400 і експозиції над парами азоту 8-10 хв. Встановлено, що додані  $\text{Zn}^{+2}$  та  $\text{Mn}^{+2}$ N-похідні ПЕГ400 в розріджувач та охолоджені впродовж 8-10 хв над парами азоту спермодози, характеризуються високим виживанням спермійв. Результати досліджень активності ензимів-маркерів запліднювальної здатності спермійв свідчать, що використання спермодоз з вмістом  $\text{Zn}^{+2}$  чи  $\text{Mn}^{+2}$ N-похідних ПЕГ400 і 8-10 хв експозицією над парами азоту, забезпечить запліднення 65 % і більше телиць та корів

після першого осіменіння. У дослідженій дозі (0,01 мл 0,0222 ммольного розчину/мл розрідженої сперми)  $Cu^{+2}N$ -ПЕГ400 не доцільно використовувати у розріджувачі для розбавлення і заморожування еякулятів бугайів, оскільки порушується інтенсивність окисних процесів, що проявляється зниженням фізіологічних характеристик статевих клітин.

**Ключові слова:** КРІОКОНСЕРВУВАННЯ, ЕКВІЛІБРАЦІЯ, СПЕРМІЇ, БУГАЙ, МІКРОЕЛЕМЕНТИ, ПОЛІМЕРИ-ТРАНСПОРТЕРИ.

## QUALITY OF DECONSERVED BULL SPERM AFTER ADDITION OF MICROELEMENTS CONNECTED TO N-DERIVATIVE PEG400 TO DILUENT

*I. Yaremchuk<sup>1</sup>, M. Sharan<sup>1</sup>, D. Ostapiv<sup>1</sup>, S. Kornjat<sup>1</sup>, A. Korbecjkyj<sup>1</sup>, O. Andrushko<sup>1</sup>, O. Chajkovska<sup>2</sup>, R. Ostapiv<sup>2</sup>, S. Varvarenko<sup>3</sup>, M. Ferens<sup>3</sup>, V. J. Samaryk<sup>3</sup>, N. Fihurka<sup>3</sup>, N. Nosova<sup>3</sup>, I. Dron<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Animal Biology of NAAS  
38, Stus street, Lviv, 79043, Ukraine  
[oddost@ukr.net](mailto:oddost@ukr.net)

<sup>2</sup>State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives  
11, Donetska street, Lviv, 79019, Ukraine  
[alexandra.dndki@gmail.com](mailto:alexandra.dndki@gmail.com)

<sup>3</sup>Lviv Polytechnic National University  
12, S. Bandery street, Lviv, 79013, Ukraine

The aim of the work was to establish optimal regimes for sperm cryopreservation when using nano-complexes in environments. The effect of micronutrients ( $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ) in the polymer-transporters on the survival and fertilization capacity of sperm bulls was investigated. To assess the validity of the complexes N-derivative PEG400, ejaculates were chosen with volume – from 2 to 5 ml, concentration - 0,7 -  $1,2 \times 10^9$  cells/ml and sperm activity 7.0 - 8.0 points. Sperm diluted with lactose-yolk-glycerin diluent was divided into parts: control - without addition and experimental with the addition of N-derivative PEG400 (N-PEG400) with a content of 1 ml of solution:  $Zn^{2+}$  - 0,0319 mmol;  $Cu^{2+}$  - 0.0222 mmol;  $Mn^{2+}$  – 0.0359 mmol. In the test sperm samples were added 0.01 ml of solutions of microelements in the polymer composition in ml of diluted ejaculate. Sperm survival was determined in sperm survival samples, motility, respiratory activity, activity of enzymes-markers of sperm fertility - succinate dehydrogenase (SDG) and cytochrome oxidase (CHO).

It was found that the optimal equilibration time of sperm in the presence of microelements in the diluent of N-derivatives of PEG400 is 2.5 hours. In this case, the activity of sperm in the presence of N-derivatives of PEG400 depends on the exposure of spermatozoa over nitrogen vapor and the ability of trace elements to affect metabolic processes in sperm. The highest values of the values of the dynamic parameters of sperm characterized deconserved sperm with the addition to the dilution medium of  $Zn^{2+}$  and  $Mn^{2+}$  N-derivatives of PEG400 and exposure to nitrogen vapors for 8-10 minutes. It was found that  $Zn^{2+}$  and  $Mn^{2+}$  N-derivatives of PEG400 that were added in the diluent after cooled for 8-10 min over nitrogen vapor are characterized by high spermatozoa survival. The results of enzymes-markers activity show that the use of spermatozoa containing PEG400  $Zn^{2+}$  or  $Mn^{2+}$  N-derivatives after 8-10 min exposure to nitrogen vapor, will ensure fertilization of 65% or more heifers and cows after the first insemination. Studied dose (0.01 ml of 0.0222 mmol solution / ml of diluted semen) of  $Cu^{2+}$  N-PEG400 should not be used in the diluent, when freezing the ejaculate of bulls, as the intensity of oxidative processes was elevated, which was manifested by a decrease in physiological characteristics of germ cells.

**Keywords:** CRYOCONSERVATION, EQUILIBRATION, SPERM, BULLS, MICROELEMENTS, POLYMERS-CONVEYORS.

До мікроелементів, які відіграють важливу роль у забезпеченні енергетичних потреб і утилізації цитотоксичних продуктів метаболізму спермій, належать  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  та  $\text{Mn}^{2+}$  (Pal et al., 2017). Доведено, що вміст вказаних мікроелементів у спермі позитивно корелює з морфологією, активністю та тривалістю виживання спермій. Зокрема,  $\text{Cu}^{2+}$  і  $\text{Mn}^{2+}$  необхідні для забезпечення активності супероксиддисмутази (Cu, Zn- і Mn-СОД), яка бере участь у захисті клітин від вільних радикалів Оксигену. При цьому, виявлено позитивну кореляцію між вмістом  $\text{Cu}^{2+}$  і рухливістю спермій у плазмі сперми буйволів (Eghbali et al., 2008). Своєю чергою  $\text{Zn}^{2+}$  також проявляє антиоксидантні властивості (Gavella & Lipovac, 1998). і вважається первинним фактором, відповідальним за антибактеріальну активність плазми сперми. Крім того  $\text{Zn}^{2+}$  відіграє важливу роль у контролі моторики спермій шляхом регулювання використання енергії за допомогою систем аденозинтрифосфатів та фосфоліпідних запасів (Hidiroglou & Knipfel, 1984; Juyena & Stelletta, 2013).

Однак, за розрідження і технологічних процесів підготовки еякулятів до кріоконсервування змінюється природний вміст мікроелементів, що впливає не тільки на структурні компоненти статевих клітин, а й порушує перебіг використання субстратів і ресинтез АТФ. Одним зі шляхів збереження високих фізіологічних характеристик і запліднювальної здатності статевих клітин є балансування складу розріджувачів еякулятів мікроелементами у вигляді органічних сполук (Yaremchuk et al., 2019). Встановлено, що мікроелементи у складі N-похідної ПЕГ400 за додавання в свіжоотримані розріджені еякуляти проявляють дозозалежний і неоднозначний вплив на активність ензиму-маркера запліднювальної здатності і виживання спермій. Виявлено, що у низьких дозах їх дія характеризується слабким впливом на виживання спермій, а вищі дози вірогідно знижують величину фізіологічного показника. Аналогічно, активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) залежить як від дози, так і від доданого в розріджену сперму мікроелемента, його ролі в метаболізмі статевих клітин.

Мета досліджень – вивчити дію комплексів мікроелементів у складі N-похідної ПЕГ400 у розрідженій спермі на фізіолого-біохімічні характеристики спермій розморожених еякулятів бугаїв.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведені в Інституті біології тварин НААН та ЛНВЦ «Західплемресурси». Для оцінювання дії комплексів мікроелементів у складі N-похідної ПЕГ400 були відібрані еякуляти бугаїв, об'ємом 2 – 5 мл, концентрацією  $0,7 - 1,2 \times 10^9$  клітин/мл та активністю спермій 7,0 – 8,0 балів. Сперму, розріджену лактозо-жовтково-гліцериним розбавником, ділили на частини: контрольну – без додавання та дослідні – з додаванням N-похідної ПЕГ400 (N-ПЕГ400) з вмістом в 1 мл розчину:  $\text{Zn}^{2+} - 0,0319$  ммоль;  $\text{Cu}^{2+} - 0,0222$  ммоль;  $\text{Mn}^{2+} - 0,0359$  ммоль. У дослідні зразки сперми додавали 0,01 мл розчинів мікроелементів у складі полімеру в мл розрідженого еякуляту. Визначали: оптимальний час еквілібрації розріджених еякулятів з тривалістю: контроль – 3,5 - 4 год та дослід – 2, 2,5 та 3 год; охолодження від кімнатної температури до 4 °С зі швидкістю: 0,5, 1,0 та 2,0 °С/хв, експозицію над парами азоту: контроль – 10 хв та дослід – 5, 8, 10 хв. На різних етапах технологічного процесу кріоконсервування: розрідження, еквілібрація, розморожування визначали кількість живих (%), динамічні показники (CASA) і виживання (год) спермій за температури 38 °С, дихальну активність розмороженої сперми, активність ензимів-маркерів запліднювальної здатності спермій – сукцинатдегідрогенази (СДГ, од) та цитохромоксидази (ЦХО, од) (Chukhriy, & Klevets, 1978).

Синтез сполук мікроелементів у складі N-похідної ПЕГ400 (ME-N-ПЕГ400) здійснено в університеті «Львівська політехніка». Статистичний аналіз отриманих результатів проведено за Н. А. Плохинським (Plokhinskiy, 1969).

**Результати й обговорення.** Скорочення часу еквілібрації до двох годин характеризувалось зниженням виживання та активності спермій розмороженої сперми у дослідних зразках, порівняно до контролю (за 3,5–4-годин; табл. 1).

**Якість спермійв розмороженої сперми бугаїв за додавання в розріджувач мікроелементів у складі полімерів і різного часу еквілібрації, n = 10, M±m**

Досліджувані показники	Час еквілібрації, год			
	2	2,5	3	3,5 - 4
Контроль				
Активність спермійв, %	-	-	-	45,5±1,2
Вживання, год	-	-	-	4,8±0,26
Zn <sup>+2</sup> N-похідна ПЕГ400				
Активність спермійв, %	40,1±2,7	49,5±2,2	49,2±2,4	-
Вживання, год	4,3±0,16	5,8±0,27*	5,4±0,18	-
Mn <sup>+2</sup> N-похідна ПЕГ400				
Активність спермійв, %	39,7±1,8*	42,5±2,4	43,2±1,9	-
Вживання, год	4,0±0,45	4,7±0,28	4,6±0,17	-
Cu <sup>+2</sup> N-похідна ПЕГ400				
Активність спермійв, %	35,6±1,9***	38,2±2,7*	36,2±1,7***	-
Вживання, год	3,7±0,25**	3,9±0,21*	3,6±0,18**	-

*Примітка:* У цій і наступних таблицях різниця статистично вірогідна порівняно до контролю: \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001

Зокрема, за 2 год еквілібрації у середовищі розрідження з мікроелементами у складі N-похідних ПЕГ400 активність статевих клітин розмороженої сперми понижена: на 5,4 % за Zn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400, на 5,8 % (p < 0,05) Mn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 і на 9,6 % (p < 0,001) Cu<sup>+2</sup>N-ПЕГ400, порівняно з контролем. Аналогічно, вживання спермійв нижче на 21,6, 24,6 і 31,5 (p < 0,01%), відповідно, за N-похідних ПЕГ400: Zn<sup>+2</sup>, Mn<sup>+2</sup> і Cu<sup>+2</sup>, ніж в контролі. За збільшення еквілібрації до 2,5 год підвищилась збереженість спермійв після розморожування сперми, що проявилось зростанням активності і вживання. Однак, активність статевих клітин вища на 8,1 % тільки за додавання в розріджувач Zn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 і нижча на 6,6 % за Mn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 і 16,1 % (p < 0,05) Cu<sup>+2</sup>N-ПЕГ400, порівняно з контролем. При цьому, вживання спермійв вище на 17,3 % за додавання в розріджувач Zn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400, не відрізняється (4,7±0,28 год) за Mn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 і на 18,8 % нижче за Cu<sup>+2</sup>N-ПЕГ400. Подовження до 3 год еквілібрації еякулятів за використання у розріджувачі ME-N-ПЕГ400 не призводило до вірогідних змін величин досліджуваних показників якості спермійв розмороженої сперми. Активність спермійв за додавання Zn<sup>+2</sup> і Mn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 знаходилась в межах 43,2 – 49,2 % і вживання – 4,6 – 5,4 год, та за Cu<sup>+2</sup>N-ПЕГ400, відповідно, 36,2 % і 3,6 год.

Отже, найкращий результат активності та вживання спермійв у зразках розмороженої сперми встановлено за додавання в розріджувач ME-N-ПЕГ400 і еквілібрації впродовж 2,5 години.

Прогресивна швидкість спермійв у певному напрямку є надійним показником відтворної здатності. Тому, вивчали кінетичні показники спермійв розморожених еякулятів під мікроскопом з використанням комплексу обладнання Sperm Vision (рис.).

За додавання у розріджувач ME-N-ПЕГ400 виявлено, що найвищі величини значень динамічних характеристик спермійв (p < 0,05 - 0,01) проявляються за додавання Zn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 у розріджувач та експозиції 8-10 хв над парами азоту, менші за присутності Mn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400, а найнижчі за додавання Cu<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 (табл. 2).

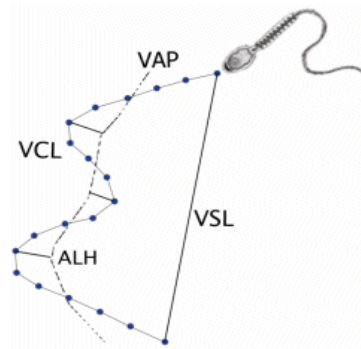


Рис. 1. Динамічні показники спермій розморожених еякулятів бугаїв: VAP — швидкість просування голівки спермія по середній траєкторії руху (мкм/с); VSL — швидкість прямолінійного руху голівки спермія уздовж прямого відрізка між початковою і кінцевою точками траєкторії (мкм/с); VCL — швидкість при криволінійному русі (мкм/с)

Таблиця 2

Якість спермій розмороженої сперми за додавання мікроелементів у складі полімерів у розріджувачі різною експозицією над парами азоту еякулятів бугаїв, n = 10, M±m

Досліджувані показники	Експозиція над парами азоту, хв		
	5	8	10
Контроль			
Активність живих спермій, %	-	-	45,5±1,23
Спермій з ППР, %	-	-	39,6±4,27
VAP, мкм/с	-	-	93,2±5,84
VSL, мкм/с	-	-	83,7±6,99
VCL, мкм/с	-	-	102,3±9,99
Zn <sup>2+</sup> N-похідна 400-ПЕГ			
Активність живих спермій, %	40,4±1,62*	45,8±2,27	48,2±2,42
Спермій з ППР, %	33,6±2,03	39,2±3,46	38,8±2,15
VAP, мкм/с	90,7±9,25	118,0±9,41*	121,6±10,37*
VSL, мкм/с	81,3±6,33	97,2±8,75	100,9±7,48
VCL, мкм/с	100,2±10,91	134,0±9,22*	145,3±8,46**
Mn <sup>2+</sup> N-похідна 400-ПЕГ			
Активність живих спермій, %	38,1±1,83**	45,6±2,12	43,2±1,92
Спермій з ППР, %	30,6±1,82	37,6±1,02	35,3±2,06
VAP, мкм/с	91,4±4,52	93,1±2,14	93,5±2,37
VSL, мкм/с	75,2±1,35	77,4±2,71	74,6±3,77
VCL, мкм/с	98,1±9,20	108,6±8,93	100,6±7,81
Cu <sup>2+</sup> N-похідна 400-ПЕГ			
Активність живих спермій, %	35,3±2,12***	36,6±3,53*	36,2±1,71***
Спермій з ППР, %	25,7±1,24**	25,9±1,46**	24,2±1,18**
VAP, мкм/с	83,6±1,08	83,4±1,47	84,8±1,82
VSL, мкм/с	67,6±3,33	66,5±2,60*	69,6±1,08
VCL, мкм/с	90,7±6,52	90,1±5,75	93,2±5,64

Примітка: VAP — швидкість просування голівки спермія по середній траєкторії руху (мкм/с); VSL — швидкість прямолінійного руху голівки спермія уздовж прямого відрізка між початковою і кінцевою точками траєкторії (мкм/с); VCL — швидкість при криволінійному русі (мкм/с).

При цьому, за додавання Zn<sup>2+</sup>N-ПЕГ400 у середовище швидкості просування голівки спермія по середній траєкторії руху і за криволінійного руху та експозиції над парами азоту

впродовж 10 хв вищі, відповідно, на 23,3 (p <0,05) і 29,6 % (p <0,01), порівняно до контролю. Додавання Mn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 у розріджені еякуляти слабо впливало на величини значень досліджуваних показників, які знаходились в межах контролю за експозиції в парах азоту 8-10 хв. Проте, додавання Cu<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 негативно впливало на активність і кількість з прямолінійним поступальним рухом спермійів, величини значень яких, відповідно, на 19,4 % (p <0,05 - 0,001) і 38,9 % (p <0,01) нижчі, ніж у контролі. Одночасно встановлені й понижені величини значень динамічних показників спермійів розморожених еякулятів бугаїв.

Отже, найвищі динамічні характеристики спермійів деконсервованої сперми характерні для розмороженої сперми за додавання у середовище розбавлення Zn<sup>+2</sup> та Mn<sup>+2</sup>N-похідних ПЕГ400 і експозиції над парами азоту 8-10 хв. .

Дихальна активність розмороженої сперми за додавання ME-N-ПЕГ400 у розріджену сперму, в залежності від режиму заморожування змінюється (табл. 3).

Таблиця 3

**Інтенсивність окисних процесів і виживання спермійів розмороженої сперми бугаїв за додавання полімерів з мікроелементами і різної експозиції в парах азоту, n = 10, M±m**

Досліджувані показники	Експозиція над парами азоту, хв		
	5	8	10
Контроль			
Дихальна активність, нг-атом O <sub>2</sub> /хв×0,1 мл С	-	-	0,84±0,18
Активність СДГ, од	-	-	44,6±1,08
Активність ЦХО, од	-	-	67,8±4,34
Вживання спермійів, год	-	-	4,8±0,26
Zn <sup>+2</sup> N-похідна 400-ПЕГ			
Дихальна активність, нг-атом O <sub>2</sub> /хв×0,1 мл С	0,72±0,17	1,11±0,21	1,04±0,20
Активність СДГ, од	44,6±2,07	54,4±2,03***	52,6±3,08*
Активність ЦХО, од	60,6±2,03	69,2±5,46	68,8±4,12
Вживання спермійів, год	4,8±0,30	5,2±0,27	5,2±0,22
Mn <sup>+2</sup> N-похідна 400-ПЕГ			
Дихальна активність, нг-атом O <sub>2</sub> /хв×0,1 мл С	0,73±0,15	1,08±0,14	1,15±0,09
Активність СДГ, од	45,6±2,08	51,7±3,41	59,8±2,82***
Активність ЦХО, од	59,7±2,24	63,9±3,46	62,6±3,18
Вживання спермійів, год	4,6±0,32	5,3±0,23	5,0±0,12
Cu <sup>+2</sup> N-похідна 400-ПЕГ			
Дихальна активність, нг-атом O <sub>2</sub> /хв×0,1 мл С	0,60±0,31	0,61±0,16	0,56±0,14
Активність СДГ, од	42,6±2,14	41,2±2,17	39,8±1,65*
Активність ЦХО, од	55,6±3,02*	54,6±2,06*	59,6±2,82
Вживання спермійів, год	3,8±0,32*	3,6±0,25**	3,6±0,38*

При цьому, за 5 хв експозиції над парами азоту і присутності в розріджувачі мікроелементів у комплексі з полімером дихальна активність 0,60 – 0,73 нг-атом O<sub>2</sub>/хв×0,1 мл С, що менше від контролю на 13,1 – 28,6 %. Однак, за додавання Zn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 в розріджувач і 8-10 хв експозиції над парами азоту величина значення зростає до 1,04 – 1,11 нг-атом O<sub>2</sub>/хв×0,1 мл С, що вище на 18,5 – 24,4 % від контролю. Аналогічні зміни величини досліджуваного показника встановлені за додавання в розріджувач Mn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400: максимальна дихальна активність (1,15±0,09 нг-атом O<sub>2</sub>/хв×0,1 мл С) характерна за 10 хв експозиції спермодоз над парами азоту. За присутності в розріджувачі Cu<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 і збільшенні часу експозиції над парами азоту спермодоз призводило до зниження на 33,3 % дихальної активності сперми.

Подібні зміни виявлені за дослідження активності СДГ і ЦХО. При цьому, за 5 хв експозиції спермодоз над парами азоту активність СДГ знаходиться в межах контролю, а за збільшення до 8-10 хв і доданих Zn<sup>+2</sup> і Mn<sup>+2</sup>N-ПЕГ400 в розріджувач на 15,3 – 18,1 (p <0,05 -

0,001) і 13,8 – 25,5 % ( $p < 0,001$ ) зростає, а за  $\text{Cu}^{+2}\text{N}$ -ПЕГ400 – знижується на 7,7 – 10,8 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з контролем. Активність ЦХО за додавання  $\text{Zn}^{+2}$  та  $\text{Mn}^{+2}\text{N}$ -похідних ПЕГ400 в розріджувач не залежала від тривалості експозиції спермодоз над парами азоту і знаходилась в межах, відповідно, 60,6 - 69,2 і 59,7 – 63,9 од. Проте, додавання  $\text{Cu}^{+2}\text{N}$ -ПЕГ400 у розріджувач еякулятів і 5-8 хв експозиція спермодоз над парами азоту призводила до зниження активності ензиму на 18,0 - 19,5 % ( $p < 0,05$ ), а за 10 хв – на 12,1 %, порівняно до контролю.

Вживання спермійв залежало від  $\text{ME-N}$ -ПЕГ400 у розрідженій спермі та тривалості експозиції спермодоз над парами азоту. Так, за 5 хв експозиції спермодоз над парами азоту і додавання  $\text{Zn}^{+2}$  та  $\text{Mn}^{+2}\text{N}$ -похідних ПЕГ400 в розріджувач вживання спермійв у межах контролю (4,6 – 4,8 год), а за 8-10 хв - на 4,0 - 9,5 % зростає. Проте, додавання в розріджувач  $\text{Cu}^{+2}\text{N}$ -ПЕГ400 і за 5 хв експозиції спермодоз над парами азоту характеризується зниженням на 20,9 % ( $p < 0,05$ ) величини фізіологічного показника, значення якого на 25,0 % ( $p < 0,05-0,01$ ) менше за 8-10 хв експозиції.

## ВИСНОВКИ

1. Оптимальним періодом еквілібрації сперми за присутності в розріджувачі мікроелементів у складі  $\text{N}$ -похідних 400-ПЕГ є 2,5 год.

2. Активність спермійв у присутності  $\text{N}$ -похідних 400-ПЕГ залежить від експозиції спермодоз над парами азоту і здатності мікроелементів впливати на обмінні процеси в сперміях. Найвищі величини значень динамічних показників спермійв характерні для деконсервованої сперми за додавання у середовище розбавлення  $\text{Zn}^{+2}$  та  $\text{Mn}^{+2}\text{N}$ -похідних ПЕГ400 і експозиції над парами азоту 8-10 хв.

3. Інтенсивність окисних процесів у спермодозах і сперміях після розморожування еякулятів бугаїв залежить від ролі мікроелементів в обмінних процесах статевих клітин та тривалості експозиції над парами азоту. Оптимальна тривалість охолодження спермодоз 8-10 хв за використання в розріджувачі  $\text{Zn}^{+2}$  та  $\text{Mn}^{+2}\text{N}$ -похідних ПЕГ400.

4. Для забезпечення високого вживання спермійв доцільно в розріджувач додавати  $\text{Zn}^{+2}$  та  $\text{Mn}^{+2}\text{N}$ -похідні ПЕГ400 та охолоджувати спермодози впродовж 8-10 хв над парами азоту.

5. Активність ензимів-маркерів запліднювальної здатності спермійв свідчить, що додані в розріджувач  $\text{Zn}^{+2}$  чи  $\text{Mn}^{+2}\text{N}$ -похідні ПЕГ400 за 8-10 хв експозиції спермодоз над парами азоту, за використання розмороженої сперми забезпечать запліднення 65 % і більше телиць та корів після першого осіменіння.

6. У дослідженій дозі (0,01 мл 0,0222 ммольного розчину/мл розрідженої сперми)  $\text{Cu}^{+2}\text{N}$ -ПЕГ400 не доцільно використовувати у розріджувачі для розбавлення і заморожування еякулятів бугаїв, оскільки порушується інтенсивність окисних процесів, що проявляється зниженням фізіологічних характеристик статевих клітин.

**Перспективи досліджень.** Вивчити дію мікроелементів у складі  $\text{N}$ -похідної ПЕГ400 на запліднювальну здатність спермійв розморожених еякулятів бугаїв.

## References

Chukhriy, B.M., & Klevets, L.O. (1978). Do metodyky vyznachennya aktyvnosta oksylyvalnykh fermentiv u spermi bugaiv. Rozvedennya ta shtuchne osimeninnya velykoi rogatoi khudoby. Kyiv. 10. 42-45. [in Ukrainian].

Eghbali, M., Alvi Shoushtari, S.M., Rezaii, S.A. (2008). Effects of copper and superoxide dismutase content of seminal plasma on buffalo semen characteristics. Pak J Biol Sci. 11. 1964–1968.

Gavella, M. & Lipovac V. (1998). In vitro effect of zinc on oxidative changes in human semen. Andrologia. — 1998. — V.30. — P. 317 – 323.

Hidiroglou, M. & Knipfel, J.E. (1984). Zink in mammalian sperm: a review. *J Dairy Sci.* 67. 1147–1156.

Juyena, N.S. & Stelletta, C. (2013). Seminal Plasma: An Essential Attribute to Spermatozoa *Journal of Andrology.* 33. 536 – 551.

Pal, R.P., Mani, V., Mir, S.H., Singh, R.K., Sharma R. (2017). Importance of Trace Minerals in the Ration of Breeding Bull. A review. *International J of Current Microbiology and Applied Sci.* 6. 218 – 224.

Plokhinskiy, N.A. (1969). *Rukovodstvo po biometrii dlya zootekhnikov.* Moskva. Kolos. 255. [in Russian].

Yaremchuk, I.M., Kuzmina, N.V., Ostapiv, D.D., Sharan, M.M., Kava, S.Y., Chaikovska, O.I., Oleksa, V.V., Nagornyak, M.I., Dron, I.A., Samaryk V.Ya., Varvarenko, S.M. (2019). Vyzhyvannya I zaplidnyuvanist spermiiv bugaiv za dodavannya v rozbavleni eyakulyaty microelementiv u skladi polimeru-transporteru. *NTB DNDKI vetpreperetiv ta kormovykh dobavok i IBT.* 20.1. 21-27. [in Ukrainian].