УДК 636.4: 591.16:612.616:577.18

Горчин С. В., аспірант
Шаран М. М., доктор сільськогосподарських наук
Яремчук І. М., кандидат сільськогосподарських наук
Інститут біології тварин НААН, м. Львів

ДИНАМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ І МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СПЕРМІЇВ КНУРІВ ПРИ ВИКОРИСТАННІ КОМБІНАЦІЙ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ У СКЛАДІ РОЗРІДЖУВАЧА

Рецензент – кандидат біологічних наук В.О. Лобченко

Наведено результати досліджень впливу різних комбінацій антибактеріальних препаратів у складі розріджувача на морфологічні та динамічні показники сперми кнурів. Вивчено фізіологічні і динамічні показники сперми кнурів за використання розчинника з різними концентраціями антибіотиків. Встановлено найвищі кінетичні показники та активність сперміїв кнурів при використанні ампіциліну, гентаміцину та енрофлоксацину у середніх сумарних дозах (60-90 мг/100мл середовища). Швидкість прямолінійного руху головки спермія уздовж прямого відрізка між початковою і кінцевою точками траєкторії (VSL) найменше змінювалась при додаванні до середовища 30 мг ампіциліну, 20 мг гентаміцину та 20 мг енрофлоксацину. Середня швидкість руху сперміїв по групі становила у перший день інкубування – 69,32 мкм/с, на 3 день – 56,64. мкм/с, на 5 день – 37,66 мкм/с.

Ключові слова: антибактеріальні препарати, сперма кнурів, якість.

Постановка проблеми. Штучне осіменіння у свинарстві є основним методом відтворення тварин, а також селекційно-племінної роботи. В умовах виробництва у більшості випадків не вдається отримати сперму без мікроорганізмів. Загальна кількість мікробних клітин у свіжоотриманій спермі коливається між 18800 і 325300 залежно від гігієни при її отриманні і клінічного стану статевих шляхів. З еякулятів кнурів найчастіше були ізольовані наступні бактерії: Bacillus spp., Actinobacillus sp., Staphylococus spp., Flavobacterium spp., Klebsiella spp., Pseudomonas sp., Micrococcus sp., E.Col., Citrobacter sp., Proteus spp., Actinomyces sp., Serattia spp., Enterobacter sp., Bacillus sp., Streptococcus spp. [4-5].

Висока контамінація сперми умовно-патогенною мікрофлорою призводить до необхідності її санації антимікробними препаратами широкого спектру дії. Масове застосування антимікробних засобів викликало появу високостійких штамів мікроорганізмів, які значно знижують якісні показники сперми, що призводить до зниження заплідненості, абортів і безпліддя самок, народження мертвого та нежиттєздатного потомства тощо [2].

Сперма, яку використовують при штучному осіменінні тварин, повинна відповідати певним санітарним вимогам, передбаченими нормативними документами, а препарати, які використовуються для розрідження і зберігання сперми повинні бути нешкідливими для сперміїв [1]. Це спонукало нас до дослідження ефективності використання різних комбінацій антибактеріальних препаратів у складі середовища для розрідження і зберігання сперми кнурів. При цьому враховували синергічні та антагоністичні властивості різних груп антибіотиків.

Мета досліджень та методика їх проведення. Метою дослідження було вивчити якість сперми кнурів впродовж інкубування in vitro за використання середовища «Екосперм» з різним складом антибактеріальних препаратів.

Дослідження проведені у Львівському НВЦ «Західплемресурси» та лабораторії фізіології і патології відтворення Інституту біології тварин НААН. Об'єктом досліджень була сперма кнура породи п'єтрен (n=3). Сперму кнурів відбирали мануально на чучело з режимом використання 2 рази на тиждень. В експерименті використали 18 еякулятів. Після отримання визначали об'єм, концентрацію сперміїв в еякуляті та транспортували у клімабоксі при температурі +17ºС. З кожного еякуляту було сформовано 6 проб (контрольну і 5 дослідних). Сперму всіх проб розріджували середовищем «Екосперм» з різним складом антибактеріальних препаратів (табл. 1).

1. Склад та дози антибактеріальних препаратів

Проби сперми	*Склад антибіотиків*	*Дози антибіотиків (на 100 мл розріджувача), мг*
Контрольна	Ампіцилін *бензилпеніцилін*	*25,0* *50,0*
1 дослідна	Ампіцилін гентаміцин енрофлоксацин	*30,0* *20,0* *20,0*
2 дослідна	Ампіцилін гентаміцин енрофлоксацин	*30,0* *30,0* *30,0*
3 дослідна	Ампіцилін енрофлоксацин	*30,0* *30,0*
4 дослідна	Левоміцетин енрофлоксацин	*30,0* *20,0*
5 дослідна	*Левоміцетин* *ампіцилін*	*30,0* *30,0*

Після розрідження сперму кнурів інкубували in vitro при температурі +17–18°С впродовж 5 діб. Щоденно визначали активність та динамічні показники сперміїв з використанням комп'ютеризованої системи CASA (Computer Assisted Semen Analysis) – SpermVision. Проводили вимірювання наступних параметрів руху сперміїв: відсоток рухливих (активність) та з прямолінійно-поступальним рухом (ППР), VAP - швидкість просування головки спермія по середній траєкторії руху (мкм/с), VSL - уздовж прямого відрізка між початковою і кінцевою точками траєкторії (мкм/с), VCL - швидкість при криволінійному русі (мкм/с), STR - ступінь прямолінійності руху сперміїв (%), LIN - ступінь лінійності (%) [3].

Результати досліджень. Статистичну обробку даних проводили комп'ютерним аналізом рухливості сперміїв впродовж 5-ти діб інкубування in vitro встановлено поступове зниження активності сперміїв (табл. 2). Найвищою активність сперміїв, впродовж усього періоду культивування in vitro зберігалася у 1, 2 і 3-й дослідних зразках сперми, у яких використовували ампіцилін, гентаміцин та енрофлоксацин у середніх сумарних дозах (60-90 мг/100мл середовища). У даних пробах сперми при культивуванні до 5-ї доби зниження активності сперми було незначним – лише 1,8-10,5 %.

2. Активність сперміїв кнурів породи п'єтрен за інкубування при +17°С, %, n=3

Доба інкубування сперми in vitro	Проби сперми						P
	К	1	2	3	4	5	
1	88,0	88,3	92,5	90,4	95,0	95,0	<0,01
2	80,0	86,5	86,5	85,0	84,5	83,5	<0,05
3	72,5	82,5	85,0	84,5	75,5	73,2	<0,01
4	60,5	67,5	65,0	63.5	57,5	55,5	<0,05
5	47,5	57,0	52,5	54,0	48,3	45,1	<0,05

Станом на п'яту добу інкубування активність сперміїв цих проб сперми кнурів перевищувала 50,0 % (57,0; 52,52; 54,0 відповідно), що вказує на її придатність для штучного осіменіння свиноматок. З третьої доби інкубування активність сперміїв у 4 і 5-й дослідних пробах різко знижувалася на 10-18%. З п'ятої доби інкубування активність сперміїв у контрольній, 4 і 5-ій пробах була меншою за 50,0 %, що робить сперму непридатною до подальшого використання.

Характеризуючи такий динамічний показник, як швидкість прямолінійного руху головки спермія уздовж прямого відрізка між початковою і кінцевою точками траєкторії (VSL), варто зазначити, що найменше варіювання цієї ознаки спостерігалося у першій дослідній пробі, де до середовища було додано 30 мг ампіциліну, 20 мг гентаміцину та 20 мг енрофлоксацину (табл.3).

3. Динамічні характеристики сперми кнурів-плідників за інкубування при +17°С, n=3

Показники впродовж інкубування	Проби сперми					
	К	1	2	3	4	5
День 1						
Актив., %	88,0	88,3	92,5	90,4	95,0	95,0
ППР, %	68,23	68,50	63,40	68,35	63,57	62,52
VCL, мкм/с	128,14	188,52	111,91	146,09	112,54	101,27
VAP, мкм/с	69,32	98,73	56,07	70,92	52,74	55,36
VSL, мкм/с	51,96	69,3	41,93	54,35	32,61	38,44
LIN, %	40,05	36,03	37,09	37,02	28,05	37,10
STR, %	74,25	70,02	74,01	76,01	46,012	54,03
День 3						
Актив., %	72,5	82,5	85,0	84,5	75,5	73,2
ППР,%	61,94	64,55	65,96	64,73	60,00	62,60
VCL, мкм/с	118,67	155,64	109,79	100,16	147,24	103,19
VAP, мкм/с	63,14	73,52	53,89	46,96	64,40	47,84
VSL, мкм/с	46,05	56,64	35,21	31,78	36,46	29,65
LIN, %	38,04	35,07	32,07	31,07	24,12	28,08
STR, %	72,08	72,04	49,06	67,04	43,09	46,09
День 5						
Актив., %	47,5	57,0	52,5	50,0	48,3	45,1
ППР, %	37,27	43,57	46,79	44,90	35,45	31,94
VCL, мкм/с	106,66	144,91	86,79	129,23	112,54	109,79
VAP, мкм/с	55,92	68,32	40,75	62,32	52,74	53,89
VSL, мкм/с	33,69	37,66	26,65	38,99	32,61	35,21
LIN, %	31,06	25,17	30,03	30,05	28,08	32,16
STR, %	52,02	47,07	46,02	48,06	46,02	49,12

Середня швидкість руху сперміїв становила у 1-й день зберігання – 69,32 мкм/с, на 3 день – 56,64 мкм/с, на 5 день – 37,66 мкм/с. При визначенні динамічних характеристик рухливості сперміїв у перший день розбавлення еякуляту середовищами з різними

концентраціями антибіотиків нами відмічено, що показники швидкості прямолінійного руху головки спермія, лінійності та прямолінійності були найвищими у контрольній, 1 та 3-ій дослідних пробах: VSL – 51,96 мкм/с, LIN – 40,05 %, STR – 74,25 % для контрольної дослідної проби, VSL – 69,32 мкм/с, LIN – 36,03 %, STR – 70,20 % для першої дослідної проби, VSL – 54,35 мкм/с, LIN – 37,02 %, STR – 76,01 % для третьої дослідної проби. Протягом усього досліджуваного періоду у даних групах показники динамічного руху сперміїв мали низьку мінливість.

Мінімальне середнє значення цього показника спостерігалося у 5-й дослідній пробі на 3-й день та у 2-й дослідній пробі на 5-й день інкубування. Динамічна характеристика сперми за цим показником становила 29,65 та 26,65 мкм/с відповідно. На п'ятий день інкубування середня швидкість по криволінійній траєкторії руху сперміїв (VCL – 144,91 мкм/с) і швидкість клітин на вирівняній ділянці руху (VAP – 68,32 мкм/с) були найвищі ($p< 0,05$) у 1-й дослідній пробі, де у склад розріджувача добавляли ампіцилін, гентаміцин та енрофлоксацин (20-30 мг/100 мл середовища).

Середня швидкість на прямих відрізках руху VSL – 38,99 мкм/с, середнє значення лінійності руху (LIN) – 30,05 % і середня величина STR прямолінійність руху – 48,06 % на 5-ий день зберігання розбавленої сперми були найвищі у 3 ій дослідній пробі. Таким чином, спермії 1 і 3-ї дослідній пробі мали найвищу ступінь рухливості до 5- го дня зберігання у порівнянні з іншими зразками. Вказані показники корелюють з активністю сперміїв впродовж інкубування ($r = 648 – 825$).

Ці дані, безумовно, потребують подальших досліджень, оскільки невідомо чи у розріджувачі, в якому відслідковувалась найвища швидкість на криволінійних та прямолінійних відрізках руху сперміїв, пов'язана із збільшенням кількості поросят на 1-свиноматку.

Висновки. 1. Застосування комбінацій ампіциліну, гентаміцину та енрофлоксацину у середніх дозах (20-30 мг/100 мл середовища) забезпечують високу активність сперміїв кнурів породи п´єтрен впродовж п'яти діб інкубування.

2. Середня швидкість по криволінійній траєкторії руху сперміїв (VCL – 144,91 мкм/с) і швидкість клітин на вирівняній ділянці руху (VAP – 68,32 мкм/с) були найвищі ($P< 0,05$) у першій дослідній пробі, де у склад розріджувача добавляли ампіцилін, гентаміцин та енрофлоксацин (20-30 мг/100 мл середовища).

3. Швидкість прямолінійного руху головки спермія уздовж прямого відрізка між початковою і кінцевою точками траєкторії (VSL), найменше змінювалась у першій і третій дослідних пробах, де використовували ампіцилін, гентаміцин та енрофлоксацин у середніх сумарних дозах (60-90 мг/100мл середовища).

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Горчин С.В. Мікробна контамінація сперми кнурів у різні пори року та чутливість до антибактеріальних препаратів / С. В. Горчин, М. М. Шаран // Наук.-тех.бюл. Інституту біології тварин УААН і ДНКІ ветпрепаратів та кормових добавок. Львів. – 2012. – Випуск 13. – №1-2. – С.460–464

2. Щербаченко Д.Ю. Применение препаратов «Ровабио™ ЕКСЕНС» И «ДАФС-25» для коррекции репродуктивной функции у свиноматок: автореф. дис. канд. вет. наук. /Д.Ю. Щербаченко - Саратов, 2006.-20с.

3. Яремчук І.М. Сучасні можливості аналізу якості сперми і розрахунку спермодоз.// Інституту біології тварин УААН і ДНКІ ветпрепаратів та кормових добавок. Львів. – 2012. – Том 14. – №1-2. – С.697–701.

4. Fernandez A; Cruz E; Lazo L., Arredondo C; Brito A – 2001, The preliminary evaluation of the lectin effect of Eschechia coli on spermatic agglutination, Revista-de-Salut-Animal, 23(2):73-79.

5. Pinto M., Ramalho S., Perestrelo-Vielra R., Rodrigues J., 2000; Microbiological profile of pure semen and seminal doses of boars used in artificial insemination in Portugal; Veterinaria-Tecnica, 10(3): 24-28.

Шаран Н.М., Яремчук И.М., Горчин С.В. *Динамические характеристики и морфологические особенности спермиев хряков при использовании комбинаций антибактериальных препаратов в составе разбавителя.*
Приведены результаты исследований влияния различных комбинаций антибактериальных препаратов в составе разбавителей на морфологические и динамические показатели спермы хряков. Изучены физиологические и динамические показатели спермы хряков за использование растворителя с различными концентрациями антибиотиков. Установлено высокие кинетические показатели и активность спермиев хряков при использовании ампициллина, гентамицина и энрофлоксацина в средних суммарных дозах (60-90 мг/100мл среды). Скорость прямолинейного движения головки спермия вдоль прямого отрезка между начальной и конечной точками траектории (VSL) менше изменялась во второй опытной пробы, где к среде было добавлено 30 мг ампициллина, 20 мг гентамицина и 20 мг энрофлоксацина. Средняя скорость движения сперматозоидов по группе составила в 1 день хранения – 69,32 мкм/с, на 3 день – 56,64мкм/с, на 5 день – 37,66 мкм/с.
Ключевые слова: антибактериальные препараты, сперма хряков, качество.

M. Sharan, I. Yaremchuk, S. Horchun. Dynamic characteristics and morphological features of boar's spermatozoa while using combinations of antibiotics in the dilution.
There are results of the research at show the influence of various combinations of antibacterials in the dilution on morphological and dynamic performance of boar's semen. Speed of the linear motion along the sperm head straight piece between the start and final points of the trajectory (VSL) the least changed in the second experimental group, where to the environment was added 30 mg of ampicillin, gentamicin 20 mg and 20 mg enrofloxacin. The average speed of spermatozoa in the group amounted to the 1 day of storage – 69,32 mm/s, third day – 56,64 mm/s, fifth day – 37,66 mm/s.
Key words: antibacterial preparations, boar's sperm, guahty.

УДК 636. 4: (612.128-129)

Данчук О.В., кандидат ветеринарних наук
Приступа Т.І., аспірант
Данчук В.В., доктор сільськогосподарських наук, професор
Андріїшин Ю.Т., кандидат ветеринарних наук
Добровольський В.А., старший викладач
Чепурна В.А., асистент
Подільський державний аграрно-технічний університет

ПЕРОКСИДНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АКТИВНІСТЬ СИСТЕМ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ПОРОСЯТ-СИСУНІВ ПІД ВПЛИВОМ ПРЕПАРАТІВ ЗАЛІЗА

Рецензент – кандидат біологічних наук А.М. Шостя.

Введення нанопрепарату Fe та залізодекстрану проявляє прооксидантний ефект. Проте, комплексне їх введення знижує прооксидантний