

activation of proliferative processes in the oviduct epithelial cell culture. Patent UA, № 51687, 6 (in Ukrainian).

5. Yvanov, V. N., H.M. Laryonov, N.Y. Kulysh, M.A. Luttseva. 1995. *Nekotorye eksperimental'nye i klinicheskie rezul'taty primeneniya kationov serebra v bor'be s lekarstvenno-ustoychivymi mikroorganizmami. Srebro v meditsine, biologii i tekhnike – Some experimental and clinical results using of silver cations in the fight against drug-resistant microorganisms. Silver in medicine, biology and engineering.* Sib. otd. RAMN, Novosibirsk, 53–62 (in Russian).

6. Uliyanov, Y. P. 2000. *Acute rhinitis and silver people among us. Abstract of the report in MidWinter Meeting of ARO:*<http://www.aro.org>.

7. Savadjan, Je. Sh. 1989. *Sovremennye tendentsii ispol'zovaniya serebrosoderzhashchikh antiseptikov – Modern trends in the use of silver-containing antiseptics* *Antibiotics and Chemotherapy.* 11:874–878 (in Russian).

8. Ji, J. H. 2007. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhalation Toxicology.* 19(10):857–871.

9. Syrvatka V.Ya., I.I. Rozhoni, I.I. Hevkan, Yu.I. Slyvchuk. 2010. Proliferatyvna aktyvnist' kul'tur klityn fibroblastiv plodiv shchuriv ta endometriya koriv pid vplyvom koloyidnoho sribla — Proliferative activity of fibroblast cell cultures of rat fetuses and endometrium of cows under the influence of colloidal silver. *Naukovo-tekhnichnyy Byuleten' Instytutu biolohiyi tvaryn UAAN – Scientific and Technical Bulletin of Institute of Animal Biology UAAN.* L'viv. 11(1):286–289 (in Ukrainian).



УДК 36.082.11:575.1

## К ВОПРОСУ О ВЗАИМОСВЯЗИ НЕКОТОРЫХ АМИНОКИСЛОТ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ СПЕРМОПРОДУКЦИИ БЫКОВ-ПРИЗВОДИТЕЛЕЙ ПОРОДЫ АБЕРДИН-АНГУСС

В. С. КОНОВАЛОВ<sup>1</sup>, В. А. КАДЫШ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)

<sup>2</sup>Подольский государственный аграрно-технологический университет (Каменец-Подольский, Украина)

[konovalov\\_vs@ukr.net](mailto:konovalov_vs@ukr.net)

Установленные обратно пропорциональные закономерности количественного содержания аминокислотных остатков свободного тирозина и цистина в плазме спермы на основании теоретического анализа результатов исследований по формированию воспроизводительной способности у быков-производителей породы абердин-ангус очевидно являются результатом сбалансированного метаболизма фермента тирозиназы со спермообразующей функцией быков-производителей.

Наблюдаемый феномен можно интерпретировать как единство функциональной связи в метаболизме тирозиназы и цистеин-декарбоксилазы, участвующих в образовании комплекса 3,4-диоксифенилаланина (ДОФА)-цистеин, обеспечивающих оптимальное спермообразование.

Установленные особенности метаболизма ароматических и серосодержащих аминокислот в плазме спермы быков-производителей открывают новые перспективы в технологиях долговременного хранения спермы.

**Ключевые слова:** быки-производители, половая зрелость, спермопродукция, свободные аминокислоты, тирозиназа

© В. С. Коновалов, В. А. Кадыш, 2014

Разведения і генетика тварин. 2014. № 48

## ДО ПИТАННЯ ПРО ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ДЕЯКИХ АМІНОКИСЛОТ З ПОКАЗНИКАМИ СПЕРМОПРОДУКЦІЇ БУГАЇВ ПОРОДИ АБЕРДИН-АНГУС

В. С. Коновалов<sup>1</sup>, В. А. Кадиш<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)

<sup>2</sup>Подільський державний аграрно-технологічний університет (Камянець-Подільський, Україна)

*Вважаємо, що встановлені обернено пропорційні закономірності кількісного змісту амінокислотних залишків вільного тирозину і цистину в плазмі сперми є результатом збалансованого метаболізму ферменту тирозинази зі спермоутворюючою функцією бугаїв.*

*Феномен, що спостерігається, можна інтерпретувати як єдність функціонального зв'язку в метаболізмі тирозинази та цистеїн-декарбоксилази, що беруть участь в утворенні комплексу 3,4-диоксифенілаланіна (ДОФА)-цистеїн.*

*Встановлені особливості метаболізму ароматичних і сірковмісних амінокислот у плазмі сперми бугаїв відкривають нові перспективи в технологіях довготривалого зберігання сперми.*

**Ключові слова:** бугаї, статеві зрілість, спермопродукція, вільні амінокислоти, тирозиназа

## TO QUESTION ABOUT INTERCONNECTION OF SOME AMINO ACID WITH INDEXES OF SPERM PRODUCTIVITY OF ABERDIN-ANGUSS BULLS

V. S. Konovalov<sup>1</sup>, V. A. Kadysh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS (Chubynske, Ukraine)

<sup>2</sup>Institute of Agriculture of Western Polissya NAAS (Shubkiv, Ukraine)

*The inversely proportional of the laws of the quantitative content of free amino acid residues tyrosine and cystine in plasma of sperm is result from a balanced metabolism enzyme tyrosinase with forming sperm function of bulls were found. The phenomenon that observed can be interpreted as a functional unity due to the metabolism of tyrosinase and cysteine- decarboxylase involved in the formation of a complex 3,4-dyoksyfenylalanyna (DOFA)-tsysteyin. The features of the metabolism of aromatic and sulfur-containing amino acids in plasma of bull sperm opens new perspectives in technology long-term crioconservation of semen were found.*

**Keywords:** sires, puberty, spermo products, free amino acid, tyrosinases

**Введение.** В условиях интенсивного применения различных методов крупномасштабной селекции в молочном и мясном скотоводстве Украины селекционеры предъявляют повышенные требования к воспроизводительной способности быков-производителей. В процессе исследований показано, что изменения количественных и качественных показателей спермопродукции тесно связаны с общим развитием животных, ростом и развитием семенников, их придатков и добавочных половых желез. Установлена как значительная зависимость показателей спермопродукции от возраста и живой массы быков, так и влияние наследственности на фенотипическое разнообразие показателей спермопродукции [1]. Интенсивность выращивания существенно влияет на рост и развитие, половую зрелость, показатели спермопродукции и интерьерные показатели быков. Таким образом очевидно, что организм функционирует как тонко сбалансированная биологическая система, некоторые аспекты которой еще недостаточно глубоко интерпретированы.

**Материал и методы исследований.** Возрастную динамику спермопродуктивности изучали на быках и быках-производителях (251 гол) породы абердин-ангус в племрепродукторах Хмельницкой и Сумской областей, главном селекционном центре Киевской области и племпредприятиях Украины.

Состав свободных аминокислот в плазме крови и сперме изучали с помощью автоматического анализатора. Для исследований у быков брали кровь из яремной вены после утреннего кормления. После отстаивания плазму крови получали путем центрифугирования на протяжении 30 минут при 4000 об/мин.

Нативную сперму после оценки ее качества центрифугировали для получения плазмы. Общий белок в крови определяли рефрактометрически, концентрацию гемоглобина и количество эритроцитов в  $1 \text{ мм}^3$  определяли на фотоэлектрическом эритрогеметре модели 065. Статистические показатели по оценке влияния возраста и живой массы на показатели спермопродуктивности изучали методом дисперсионного анализа, а корреляционные взаимосвязи и достоверность разницы между показателями определяли по методикам Н. А. Плохинского, П.Ф. Рокитского [2, 3].

**Результаты исследований.** Результаты проведенных исследований показали, что свободные аминокислоты плазмы крови и плазмы спермы имеют тесную связь с различными показателями спермопродукции ( $r = 0,390-0,899$ ). Характерной особенностью межтканевого обмена является 3–4-кратное увеличение содержания свободных аминокислот в плазме спермы по сравнению с плазмой крови. Последующий корреляционный анализ связи основных показателей спермопродукции и насыщенности плазмы спермы незаменимыми и заменимыми аминокислотами выявил в обмене такие аминокислоты, как фенилаланин, тирозин и цистин, а также метаболически важную закономерность (табл. 1–2). Только для содержания тирозина и цистина в плазме спермы характерна высокодостоверная обратно-пропорциональная зависимость. Для фенилаланина взаимосвязь незначительна.

*1. Взаимосвязь показателей спермопродукции с аминокислотным составом плазмы крови /  $r \pm m_r(I)$  /*

Название аминокислот	Вырожденность кода	Объем эякулята	Концентрация спермиев	Общее количество спермиев	Активность спермиев
Все аминокислоты	-	0,984±0,03	0,952±0,06	0,974±0,04	0,964±0,05
Фенилаланин	2	0,643±0,14	0,518±0,18	0,584±0,15	0,578±0,15
Тирозин	2	0,646±0,14	0,505±0,16	0,555±0,15	0,594±0,15
Цистин	2	0,854±0,10	0,902±0,08	0,908±0,08	0,859±0,10

Считаем, что установленная закономерность взаимосвязи обусловлена общностью метаболизма двух ароматических аминокислот, среди которых фенилаланин является предшественником тирозина. Характерно, что вырожденность генетического кода (т.е. надежность кодирования аминокислоты) для этих аминокислот одинакова [4]. Этот факт свидетельствует об общности их метаболической эволюции. В то же время в плазме крови цистин имеет очень высокие коэффициенты корреляции – более 0,850.

*2. Взаимосвязь показателей спермопродукции с аминокислотным составом плазмы спермы /  $r - m_r(I)$  /*

Название аминокислот	Вырожденность кода	Объем эякулята	Концентрация спермиев	Общее количество спермиев	Активность спермиев
Все аминокислоты	–	0,905±0,08	0,851±0,10	0,914-	0,872±0,09
Фенилаланин	2	0,241±0,18	0,436±0,17	0,359±0,17	0,264±0,18
Тирозин	2	-0,816±0,11	-0,820±0,11	-0,818±0,11	-0,892±0,08
Цистин	2	-0,642±0,14	-0,740±0,13	-0,701±0,13	-0,731±0,13

Считаем, что для понимания причин формирования отрицательных корреляционных связей в обмене тирозина и цистина с показателями спермопродукции, важно учитывать три особенности механизма множественного (плейотропного) действия гена тирозиназной активности (TYR): 1 – метаболическую взаимосвязь обмена этих трех аминокислот в биосинтезе меланиновых пигментов; 2 – катаболическую сущность фермента тирозиназы, превращающего аминокислоту тирозин в пигмент меланин; 3 – в эякуляте спермы содержится фермент тирозиназа [5].



Рис. Схема биосинтеза меланиновых пигментов

Для наглядности основных путей метаболизма исходных биохимических субстратов по пути возможного пигментообразования приводим соответствующую схему. В рассматриваемой схеме фермент с тривиальным названием тирозиназа (К.Ф.1.14.18.1) не только использует для синтеза пигмента меланина свободный тирозин, но обладает мощным катаболическим действием на стареющие или деструктивные белки, весьма эффективно утилизируя из молекулы белка остатки тирозина [6]. В сравнении с другими протеазами столь высокая «киллерская» способность тирозиназы разрушать даже нативные белки обусловлена исключительно низкой энергией ее активации – 11300 Дж. Для других ферментов этот уровень составляет порядка 20900–83700 Дж [7]. При этом необходимо учитывать, что процесс дальнейшего превращения вновь синтезированного ДОФА (3.4-диоксифенилаланина) частично идет по каскадному типу свободнорадикальной полимеризации. Учитывая, что в эякуляте спермы содержится фермент тирозиназа в проактивной форме [8], весь процесс утилизации в плазме спермы остатков свободного или связанного тирозина происходит на фоне относительно низких энергетических затрат. С позиций генно-регуляторного управления метаболизма исходных субстратов важно учитывать, что синтез протирозиназы происходит конститутивно (т.е. постоянно). Это дает основание утверждать, что данный фермент постоянно находится в состоянии «молчащей» готовности. В этой связи вполне логично предположить, что в случае какого-либо деструктивного изменения белка, например, под влиянием антропогенных факторов, процесс активации тирозиназы «запускается» меньшим числом молекул аминокислотного регулятора. Иными словами другие ферменты-протеазы активируют ее адаптивно, в зависимости от уровня содержания тирозина. Считаем, что описанный механизм является определяющим в возникновении описанных отрицательных корреляционных связей. Крайними вариантами этих процессов является появление в эякуляте отдельных быков-производителей темных «вкраплений» О-хиноидной природы.

При оценке обмена цистина важно учитывать, что данная аминокислота есть производное цистеина R-, группа которой содержит исключительно реакционноспособную сульфгидрильную группировку, которая довольно легко подвергается окислению с образованием дисульфида в виде цистина [9].

Плазма крови, как материальный носитель этой аминокислоты, определяет низкое количество цистина в плазме спермы, что обратно пропорционально взаимосвязано со спермообразующей функцией организма быков.

Считаем, что исключительно важной причиной формирования обратных корреляционных связей между содержанием в плазме спермы свободных аминокислот тирозина и цистина является высокая катаболическая активность ферментов полифенольного ряда, в частности тирозиназы К.Ф.1.14.18.1. Наличие в плазме спермы значительных количеств свободного тирозина и цистина способствует активации «киллерской» способности протеазных ферментов, которые способны разрушать недостаточно нативную структуру ослабленных генеративных клеток [10].

**Выводы.** Наблюдаемый феномен можно интерпретировать как единство функциональной связи в метаболизме тирозиназы и цистеин-декарбоксилазы, участвующих в образовании комплекса 3.4 диоксифенилаланина (ДОФА)-цистеин, освобождающих процесс спермообразования от метаболического груза.

Установленные особенности метаболизма ароматических и серосодержащих аминокислот в плазме спермы быков-производителей открывают новые перспективы в технологиях долговременного хранения спермы.

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. Кадиш В. О. Формування відтворювальної здатності у бугаїв-плідників абердин-ангуської породи: автореферат дисертації. – Київ, 2001. – 16 с.
2. Плохинский Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников. – М. : Колос, 1969. – 255 с.
3. Рокицкий П. Ф. Введение в статистическую генетику. – Минск, 1978. – 240 с.
4. Momim V. Synthetic activities during spermatogenesis in the mouse // *Exp Cell Res.* – 1965. – № 39. – P. 197
5. Льюин Б. Гены. – М.: Биком. Лаборатория знаний, 2012. – 896 с.
6. Шибата К. Доступность для реагентов и окружение аминокислотных остатков в нативных белках. Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков. – М.: Мир, 1974. – С. 345–386.
7. Вестерн Т. В. Дыхательные ферменты / Т. В. Вестерн, Н. П. Лисовская. – М. : Иностран. лит-ра, 1952. – 34 с.
8. Коновалов В. С. Механизмы плейотропного действия генов меланиновой окраски у животных организмов: автореферат диссертации доктора биологических наук. – Ленинград-Пушкин, 1983. – 42 с.
9. Айала Ф. Современная генетика / Ф. Айала, Дж. Кайгер. – М. : Мир, 1987. – 295 с.
10. Коновалов В. С. Состояние, проблемы и перспективы развития колор-маркерной селекции в животноводстве. В. С. Коновалов. Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології / – Т. 1. – К. : Логос, 2007. – С. 252–254

## REFERENCES

1. Kadysh, V. O. 2001. *Formuvannya vidtvoryval'noyi zdatnosti u buhayiv-plidnykiv aberdyn-anhus'koyi porody: avtoreferat dysertatsiyi – Bugaiv-plidnykiv of aberdin-anguskoy of breed has forming of reproductive ability: abstract of thesis of dissertation.* Kyiv, 16 (in Ukrainian).
2. Plokhinskiy, N. A. 1969. *Rukovodstvo po biometrii dlya zootekhnikov – Guidance of biometriya for zotekhniks.* Moskow, Kolos, 255 (in Russian).
3. Rokitskiy, P. F. 1978. *Vvedenie v statisticheskuyu genetiku – Introduction to statistical genetics.* Minsk. 40.(in Belorussiya).
4. Momim, V. 1965. Synthetic activities during spermatogenesis in the mouse. *Exp Cell Res.* 39:197.
5. L'yuyn, B. 2012. *Heny – Genes.* Moskow, Bykom. Laboratoryya znanyy, 896 (in Russian).
6. Shibata, K. 1974. *Dostupnost' dlya reagentov i okruzhenie aminokislotnykh ostatkov v nativnykh belkakh. Novye metody analiza aminokislot, peptidov i belkov – Availability for reagents and surroundings of amino acid tailings is in native squirrel. New methods of analysis of amino acid, peptids and albumens.* Moskow, Mir, 345–386 (in Russian).
7. Vestern, T. V., Lisovskaya, N. P. 1952. *Dykhatel'nye fermenty – Respiratory enzymes.* Moskow, Inostrannaya literatura, 34.
8. Konovalov, V. S. 1983. *Mekhanizmy pleyotropnogo deystviya genov melaninoy okraski u zhyvotnykh organizmov: avtoreferat dissertatsii doktora biologicheskikh nauk – Mechanisms of pleyotropnogo action of genes of the melaninoy colouring at animal organisms: abstract of thesis of dissertation of doctor of biological sciences.* Leningrad-Pushkin, 42.
9. Ajala, F., and Dzh. Kajger. 1987. *Sovremennaja genetika – Sovremennaja genetika.* Moskow, Mir, 295 (in Russian).

10. Konovalov, V. S. 2007. Sostoyanie, problemy i perspektivy razvitiya kolor-markernoy selektsii v zhivotnovodstve – State, problems and prospects of development of kolor-marker selection in a stock-raising. *Dosyahnennya i problemy henetyky, selektsiyi ta biotekhnolohiyi – Achievement and problems of genetics, selection and biotechnology*. Kyiv, Lohos, 1:252–254 (in Ukrainian–Russian).

УДК 636.2.082.4:57.086.13:591.463.1

## МОРФОЛОГІЧНІ І ФІЗІОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ СПЕРМИ БУГАЇВ ДОВГОТРИВАЛОГО ЗБЕРІГАННЯ

**А. О. ЛЯШЕНКО**

*Черкаська дослідна станція біоресурсів НААН (Черкаси, Україна)*  
[scientist\\_andru@ukr.net](mailto:scientist_andru@ukr.net)

Проведено дослідження морфологічних і фізіологічних характеристик деконсервованих сперматозоїдів бугаїв різних порід Банку генетичних ресурсів за умов довготривалого зберігання в рідкому азоті. Вивчено стан акросоми сперматозоїдів бугаїв молочних і м'ясних порід за різних термінів зберігання. Визначена кількість клітин з прямолінійно-поступальним рухом у дозі сперми в умовах довготривалого зберігання. Проведена оцінка фізіологічної повноцінності сперматозоїдів з використанням тесту гіпоосмотичного набухання – *Hуро-osmotic Swelling Test (HOST)*. Визначено позитивний зв'язок між кількістю патологічних форм і відсотком пошкоджених акросом ( $r=0,3$ ) ( $p<0,05$ ) та високо-вірогідний негативний зв'язок між *HOST* і відсотком пошкоджених акросом ( $r=-0,44$ ) ( $p<0,001$ ). Встановлено, що впродовж довготривалого зберігання сперми бугаїв спостерігається тенденція до зниження фізіологічних та морфологічних показників, що свідчить про їх взаємозалежність та важливість при подальшому аналізі запліднюючої здатності сперматозоїдів бугаїв. Визначено, що у спермі бугаїв симентальської породи, за терміну зберігання 31–45 років, спостерігались високі значення патологічних форм (більше 24 %), нижча кількість клітин з нормальною акросомою (73,1 %) та підвищена кількість спермій з розірваною акросомою (7,6 %).

**Ключові слова:** кріоконсервована сперма, прямолінійно-поступальний рух, абсолютний показник виживаності сперматозоїдів, фізіологічна повноцінність сперматозоїдів, патологічні форми, тест гіпоосмотичного набухання, довготривале зберігання, порода

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СПЕРМЫ БЫКОВ ДОЛГОВРЕМЕННОГО ХРАНЕНИЯ

**А. А. Ляшенко**

*Черкасская опытная станция биоресурсов НААН Украины (Черкассы, Украина)*

Проведено исследование морфологических и физиологических характеристик деконсервированных сперматозоидов быков различных пород Банка генетических ресурсов в условиях длительного хранения в жидком азоте. Изучено состояние акросомы сперматозоидов быков молочных и мясных пород при различных сроках хранения. Определено количество клеток с прямолинейно-поступательным движением в дозе спермы в условиях длительного хранения. Проведена оценка физиологической полноценности сперматозоидов с использованием теста гипосмотического набухания – *Hуро-osmotic Swelling Test (HOST)*.

© А. О. Ляшенко, 2014