

## ПРО ОСОБЛИВОСТІ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ У СВІЖІЙ ТА ЗБЕРЕЖЕНІЙ СПЕРМІ КНУРІВ

**В. Ю. ХАЗАН,**  
науковий співробітник

**М. Т. ПЛШКО,**  
кандидат біологічних наук

*Центральна дослідна станція по штучному  
осіменінню сільськогосподарських тварин*

У зв'язку з широким і успішним застосуванням штучного осіменіння свиней необхідно більш глибоко вивчити фізіологічні та біохімічні процеси, які відбуваються в спермі після її одержання.

Вуглеводний обмін більш вивчався у спермі бугаїв (В. К. Милонов, Н. П. Шергін, І. І. Соколовська, Манн та ін.) і значно менше у спермі кнурів.

Так, О. С. Співаков встановив, що чим інтенсивніше проходить ґуктоліз у спермі бугаїв, тим вища її запліднювальна здатність.

П. Пилипей із співробітниками (1970) встановили, що у спермі пів- в кількість фруктози і глюкози дуже швидко зменшується.

Тривалий період вважали, що життєдіяльність сперміїв зумовлю- ься запасом енергетичного матеріалу, який міститься у самій кліти- (Ф. Ліллі, 1925). Здатність статевої клітин засвоювати поживні ре- вини була доведена А. Д. Бернштейном (1933), який встановив пря- у залежність між швидкістю розщеплення цукру плазми та активністю терміїв.

Сперміям для проходження статевого апарата і досягнення яйце- ітини необхідно затратити значну кількість енергії, звільненої при зщепленні аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ), яка поповнюється процесі ресинтезу. Основними механізмами, які забезпечують регене- цію АТФ і АДФ, є окислення фруктози або глюкози нормально функ- онуючими мітохондріями.

Вивчення динаміки використання сперміями цих або інших цукрів лежно від складу розріджувача та інших умов являє собою великий терес. В останній період досить ефективно в розріджувачах сперми стосовується хелатон (трилон Б). Тому важливо було також з'ясува- і дію цього препарату на обмін вуглеводів.

**Методика досліджень.** У даній роботі проведено дослідження рівня користання фруктози, глюкози, а також глікогену в нерозведеній і зведеній декількома синтетичними середовищами спермі при різних ежимах її зберігання.

Для дослідження використовували сперму від двох елітних кнурів великої білої та одного кнура миргородської порід у 3—5-річному віці.

Сперму одержували від кнурів два рази на тиждень (через 3—4 дні), еякуляти ділили на порції і розводили такими синтетичними середовищами: глюкозо-хелато-цитратним (ГХЦ), глюкозо-тартратним (ГТ) та 6-процентним розчином глюкози у співвідношенні 1:1. Частину еякуляту не розводили і ділили на дві проби — одну зберігали при кімнатній температурі, другу — на холоді (0—8°). Проби сперми зберігали в темному місці у скляних колбочках при аеробних умовах і оптимальних для кожного середовища (і умов досліду) температурах (0—2; 5—8; 15—22°). У свіжоодержаних еякулятах визначали об'єм сперми і концентрацію та активність спермій.

Фруктозу досліджували за методом Кулька, глюкозу — за Куліманом—Головацьким, глікоген — за методом Пфлюгера (Pflüger, 1905, Seifter та ін., 1950).

**Результати досліджень.** Дослідженнями встановлено, що в нерозведеній спермі при зберіганні проб в умовах кімнатної температури кількість фруктози швидко зменшується (табл. 1).

1. Динаміка фруктози залежно від складу середовища і строків зберігання сперми кнурів, мг% ( $n=17; M \pm m$ )

Проби сперми	Строки зберігання, год				
	3	24	48	72	96
Нерозведена	9,37 ± 1,75	7,62 ± 1,02	4,47 ± 1,29	2,42 ± 0,70	2,24 ± 0,68
Розведена ГТ середовищем у співвідношенні 1:1	21,77 ± 1,63	22,37 ± 1,34	20,23 ± 1,49	17,04 ± 1,39	12,83 ± 2,07
Розведена 6-процентним розчином глюкози у співвідношенні 1:1	25,83 ± 1,50	26,49 ± 1,41	25,40 ± 1,60	22,45 ± 1,28	20,03 ± 1,77
Розведена ГХЦ середовищем у співвідношенні 1:1	27,54 ± 1,99	25,23 ± 1,22	26,98 ± 2,19	26,21 ± 1,28	23,98 ± 2,35

Так, за 2—3 доби кількість її знижується у 2—4 рази порівняно з вихідним рівнем. Ступінь використання фруктози і глюкози в процесі зберігання сперми залежить від складу середовища, яким розведена сперма. Наприклад, у розведеній ГХЦ середовищем і збереженій протягом 3—4 діб спермі концентрація фруктози зменшується лише на 4—13%, тобто на 1,33—3,56 мг% ( $P > 0,01$ ), а в спермі, розведеній ГТ середовищем та 6-процентним розчином глюкози, — відповідно на 21—41 і 13—22%, тобто на 4,73—8,94 і 3,38—5,80 мг% ( $P > 0,001$ ).

Уже через 2 год після розведення сперми ГХЦ, ГТ середовищем та 6-процентним розчином глюкози кількість фруктози збільшується у 2—2,5 рази порівняно з нерозведеною спермою (27,54—21,77 мг% проти 9,37 мг%). Потім у цих пробах концентрація її постійно знижується. Механізм даного явища, очевидно, пояснюється перетворенням певної

кількості глюкози у фруктозу. Відомо, що цей процес може проходити не лише в сім'яних пухирцях, а й в самих сперматозоїдах (Манн, 1962; Кінг, 1962).

Щодо глюкози, яку вносять з розріджувачами, то значна кількість її використовувалась у тих пробах сперми, які були розведені ГТ середовищем і 6-процентним розчином глюкози (табл. 2). За добу рівень глюкози у цих пробах знижувався на 100 мг%, а в спермі, розведеній ГХЦ середовищем, концентрація її не змінювалась. За 3—4 доби у

2: Динаміка глюкози залежно від складу середовища і строків зберігання сперми кнурів, % ( $n=20$ ;  $M \pm m$ )

Проби сперми	Строки зберігання, год				
	3	24	48	72	96
Розведена ГТ середовищем у співвідношенні 1:1	2,31±0,07	2,21±0,08	2,13±0,08	1,85±0,1	1,53±0,17
Розведена 6-процентним розчином глюкози у співвідношенні 1:1*	2,77±0,08	2,67±0,08	2,56±0,07	2,47±0,07	2,14±0,15
Розведена ГХЦ середовищем у співвідношенні 1:1	2,95±0,07	2,95±0,10	2,74±0,07	2,72±0,05	2,61±0,11

\* Вихідна концентрація глюкози зразу після розведення сперми ГХЦ середовищем і розчином глюкози становила 3, ГТ середовищем — 2,3%.

спермі, розведеній ГТ середовищем, вона знижувалася на 460—780 мг% ( $P < 0,001$ ), 6-процентним розчином глюкози — на 300—630 ( $P < 0,001$ ) та ГХЦ середовищем — на 230—340 мг% ( $P > 0,01$ ). У спермі, розведеній ГТ середовищем і 6-процентним розчином глюкози, протягом 3—4 діб глюкози використано у 2 рази більше, ніж у спермі, розведеній ГХЦ середовищем.

Отже, у розведеній спермі глюкози витрачалось значно більше, ніж фруктози. Можливо, це пояснюється тим, що використана сперміями фруктоза поповнюється за рахунок перетворення певної кількості глюкози через фруктозо-6-фосфат, і тому її концентрація у розведеній спермі змінюється незначно.

За даними Н. П. Шергіна (1967), фруктоза і глюкоза, додані до суспензії промитих сперміїв бугая в ізотонічному соляному розчині окремо, розщеплюються порівняно однаково, а якщо ці цукри вводили у суспензію разом, то розщеплюється лише глюкоза, а фруктоза майже не розпадається. Це повторено і в наших дослідах.

Певний інтерес являють собою дослідження вмісту глікогену у сперміях. Так, у свіжій нерозбавленій спермі міститься в середньому 9 мкг

глікогену на 1 млрд. клітин. Після розведення сперми середовищами, які не містять хелатону, кількість глікогену у сперміях значно підвищується і знаходиться на високому рівні протягом доби (16—44 *мкг/млрд*), а потім його кількість зменшується.

Особливо високий вміст (44,8 *мкг/млрд*,  $P < 0,05$ ) глікогену в сперміях, збережених у ГТ середовищі при температурі 5—7°, був через добу. Кількість глікогену у сперміях через три доби зменшилась майже в два-три рази (4—14 *мкг/млрд*) порівняно з добовим періодом зберігання сперми (16—44 *мкг/млрд*). На вміст глікогену в сперміях зовсім по-іншому впливало ГХЦ середовище. Збільшення глікогену в цих пробах не спостерігалось (концентрація його через добу становила в середньому 10 *мкг/млрд*, а через дві-три доби кількість його знижувалась до 7—4 *мкг*).

Таким чином, досліджувані нами безхелатонні середовища сприяли синтезу глікогену в сперміях, а хелатонне середовище (ГХЦ) гальмувало цей синтез.

Отже, зменшення глюкози, фруктози і глікогену в нерозведеній або розведеній ГТ середовищем та 6-процентним розчином глюкози спермі після двох діб зберігання проходить не за рахунок життєдіяльності сперміїв, бо в цей період живих клітин було мало, а рівень вуглеводів продовжував знижуватись більш інтенсивно, ніж у перші дві доби. У розведеній ГХЦ середовищем спермі концентрація фруктози, глюкози і активність сперміїв знижувались повільніше.

Зниження концентрації фруктози, глюкози і глікогену після 3—4-добового зберігання у розведеній ГТ середовищем спермі, можливо, здійснюється за рахунок утилізації цих вуглеводів мікроорганізмами.

Раніше проведеними дослідженнями (А. Г. Толстова і М. Т. Плішко, 1965—1966) встановлено, що в нерозведеній і розведеній середовищами, які не містять хелатону, спермі значно збільшується кількість мікроорганізмів, особливо гнильних (після 3—4-добового зберігання нараховуються сотні тисяч і мільйони бактерій у 1 *мл* сперми). У пробах сперми з хелатоновими середовищами за цей період зберігання кількість мікроорганізмів незначно збільшувалась лише в 50% проб.

Повільне зниження вмісту фруктози, глюкози і глікогену в спермі, розведеній ГХЦ середовищем, можна пояснити також і тим, що в цьому середовищі обмінні процеси сповільнюються і спермії знаходяться в більш глибокому стані анабіозу, ніж в інших середовищах. Це в свою чергу позитивно впливає на виживаність сперміїв.

Як уже повідомлялось (М. Т. Плішко і Б. О. Цудзевич, 1969), збільшення молочної кислоти в нерозведеній спермі відбувається в перші 24 год зберігання (до 20,4 *мг%*). У розведеній ГХЦ середовищем спермі молочна кислота нагромаджувалась менш інтенсивно, особливо в перший період зберігання. Це пояснюється, можливо, тим, що в пробах з хелатоновими середовищами гліколітичні процеси проходять менш інтенсивно, ніж у нерозведеній спермі або розведеній іншими середовищами. Якщо це дійсно так, то встановлена здатність хелатону діяти

Проби сперми	Кількість спермів з поступальним прямолінійним рухом у спермі, збереженій протягом											
	3 год.			доби			2 діб			3 діб		
	M	±σ	±m	M	±σ	±m	M	±σ	±m	M	±σ	±m
Нерозведена 20—26	80,29	5,44	1,32	55,0	22,07	5,35	27,35	30,98	7,51	5,88	14,92	3,62
Розведена 6-процентним розчином глюкози у співвідношенні 1:1	80,29	5,44	1,32	76,18	5,46	1,32	54,12	24,25	5,88	20,29	27,64	6,70
Розведена ГТ середовищем у співвідношенні 1:1	80,88	4,76	1,15	76,76	3,81	0,92	53,35	21,80	5,29	18,82	26,84	6,51
Розведена ГХЦ середовищем у співвідношенні 1:1	80,29	5,44	1,32	77,35	5,04	1,22	70,59	4,64	1,12	59,41	10,74	2,60

Примітка. Порівняно низькі показники активності спермів у ГХЦ середовищі через 3 доби пояснюються тим, що половину дослідів проведено на спермі, збереженій при високій плюсовій температурі (23—26°).

в такому напрямку на метаболічні процеси у спермі являє певний інтерес. Відомо, що при гліколізі 25 молей фруктози одержують 50 молей АТФ, в той час як при диханні 10 молей фруктози, окислюючись за циклом Кребса, дають 240 молей АТФ (Turner і Korsh, 1953, 1963).

Фізіологічними дослідженнями доведено, що між кількістю аденінових сполук і рухливістю спермів існує пряма кореляція (табл. 3).

У спермі, розведеній ГХЦ середовищем, переважає окислювальне фосфорилування, в той час як у нерозведеній спермі, а також розведеній іншими середовищами (які не містять хелатону) більш виражені гліколітичні процеси. Активне втручання в обмінні процеси сперми за допомогою хімічних речовин (в даному випадку хелатону) дає можливість сповільнити старіння спермів і продовжити їх виживання.

## ВИСНОВКИ

1. При зберіганні проб в умовах кімнатної температури у нерозведеній спермі кількість фруктози швидко зменшується (за 2—3 доби у 2—4 рази) порівняно з вихідним рівнем.

У розведеній спермі концентрація фруктози різко зростала (через 3 год після розведення в 2—2,5 рази) порівняно з нерозведеною спермою. Помітне зниження даного ву-

гледову відбувається після 3—4-добового зберігання, особливо в спермі, розведеної глюкозо-гартратним середовищем (на 21—41%).

Зразу після розведення сперми рівень глюкози різко знижувався.

2. У спермі кнурів, розведеної хелатоновими середовищами, кількість глікогену в клітинах значно збільшується протягом першої доби, а протягом наступних 2—3 діб його кількість зменшується в 3—4 рази.

У хелатоновому середовищі (ГХЦ) рівень глікогену протягом доби залишався майже сталим, а за наступні 2—3 доби знижувався до 7—4 *мкг/млрд* проти 10 *мкг/млрд*.

У розведеної ГХЦ середовищем спермі переважає окислювальне фосфорилування, а у нерозведеної спермі та розведеної іншими середовищами (що не містять хелатону) переважають гліколітичні процеси.

4. У хелатонових середовищах життєдіяльність сперміїв більш тривала.

## Література

Мамзина Е. А., Комарова В. В. Матеріали VI Всесоюзної конференції по фізіологічеським і біохімічеським основам підвищення продуктивності сільськогосподарських тварин. Боровск, 1968.

Милованов В. К. Новое в биологии размножения сельскохозяйственных животных. М., Сельхозгиз, 1951.

Пилипей Т. П., Жазан В. Ю., Генкін О. А. «Тваринництво України», 1970, № 2.

Плишко Н. Т. III Республиканская научная конференция по физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных. Львов, 1964.

Плишко М. Т., Цудзевич Б. О. «Вісник Київського університету», 1969, № 11.

Спиваков А. С. Племенное дело и искусственное осеменение сельскохозяйственных животных. К., «Урожай», 1964.

Шергин Н. П. Новое в биологии размножения сельскохозяйственных животных. М., Сельхозгиз, 1951.

Seifter S., Dayton S., Novic B., Muntwyles E. The Estimation of Glycogen with the Anthrone Reagent. Arch. Biochem., 1950, 25, 1, 191.

Pflüger E. F. W. Das Glykogen und seine Beziehungen zur Zuckerkrankheit, 2 Aufl., Bonn, 1905.

## ЗВ'ЯЗОК ОСМОТИЧНОГО ТИСКУ СПЕРМИ БУГАЇВ ІЗ ЗДАТНІСТЮ ЇЇ ПЕРЕНСИТИ ГЛИБОКЕ ОХОЛОДЖЕННЯ<sup>1</sup>

А. З. ЄМЕЦЬ

*Українська сільськогосподарська академія*

Осмотичний тиск є одним з важливих фізико-хімічних показників сперми сільськогосподарських тварин. На основі даних Галеотті (1910)

<sup>1</sup> Науковий керівник — проф. І. В. Смирнов.