https://doi.org/10.15407/animbiol23.02.012
UDC 636.4.08612.176
Received 05.04.2021 ▪ Accepted 16.05.2021 ▪ Published online 01.07.2021

Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз та відтворювальна здатність кнурів-плідників за впливу цитрату міді

А. С. Сябро
siabro.aliona@gmail.com

Полтавська державна аграрна академія,
вул. Сковороди, 1/3, м. Полтава, 36003, Україна

Процеси пероксидного окиснення відіграють провідну роль у забезпеченні рухливості, виживаності та запліднювальної здатності сперміїв. При цьому особлива роль належить лімітуючим антиоксидантам — вітамінам, амінокислотам, мікроелементам. Тому розроблення програм нормованої годівлі для забезпечення антиоксидантного живлення є одним з ефективних методів репродуктивної біотехнології. Метою досліджень було встановити вплив цитрату міді на якість спермопродукції та формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі кнурів-плідників. В досліді використані дорослі кнури великої білої породи, аналоги за віком, живою масою та якістю спермопродукції. Дослідним групам згодовували цитрат міді понад норму на 10% та 20% відповідно. Встановлено, що згодовування кормбікорму кнурам-плідникам з додаванням цієї сполуки в кількості 10% понад норму вірогідно збільшує масу еякуляту на 12,5% (P<0,05), підвищує рухливість та виживаність сперміїв на 6,5% (P<0,01) і 13,5% (P<0,001). Такі зміни у спермі відбуваються на тлі збільшення активності СОД на 80,6% (P<0,05), зменшення КТ на 43,5% (P<0,05), сповільнення процесів пероксидації — зниження дієнових кон'югатів та ТБК-активних сполук. Додаткове введення до раціону цитрату міді на 20% понад норму збільшує концентрацію сперміїв на 13,2% (P<0,01), кількість живих сперміїв на 20,7% (P<0,01) з одночасним зниженням їх виживаності, що зумовлено прискоренням процесів пероксидації — збільшенням вмісту дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук, ДАК та зниженням відновленого глутатіону. Встановлено, що запліднювальна здатність сперміїв істотно залежала від кількості згодовуваного мікроелементу. Після осіменіння спермою кнурів-плідників, добавка міді в раціоні яких становила 10%, свиноматки мали вищі показники заплідненості на 7,1%, багатоплідності — на 3,6% і маси гнізда при відлученні — на 8,8%. Додаткове введення цитрату міді у кількості 20% призвело до зниження запліднювальної здатності сперміїв: показник заплідненості свиноматок III групи був найнижчим, на 7,7% і 14,3% меншим порівняно з I та II групами. Подібну тенденцію спостерігали і за показниками великоплідності, маси гнізда при народженні та відлученні. Отже, додаткове згодовування незначної кількості міді позитивно впливає на функціональну активність сперміїв, процеси нормального перебігу запліднення, росту і розвитку ембріонів та новонароджених поросят за рахунок оптимізації формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

Ключові слова: кнури-плідники, цитрат міді, спермопродукція, пероксидне окиснення, відтворення

Збільшення виробництва свинини напряму залежить від успішності відтворення стада за рахунок правильного використання методів репродуктивної біотехнології. Широке застосування методу штучного осіменіння підвищує інтерес до отримання високоякісної спермопродукції, придатної для зберігання та кріоконсервації. Тому раннє визначення кнурів зі зниженою фертильністю є пріоритетним завданням для програм штучного осіменіння [7, 10].

Встановлено, що протягом зберігання сперми її якість знижується, основною причиною чого є окисний стрес (пероксидне окиснення ліпідів). Велика

кількість поліненасичених жирних кислот у плазматичній мембрані сперміїв, а також обмежена антиоксидантна здатність пригнічувати генерування активних форм кисню (АФК) робить їх вразливими до змін прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу (ПАГ) в організмі [20].

Активність антиоксидантного захисту відіграє важливу роль у підтримці цілісності мембран, рухливості та запліднювальній здатності сперміїв. Тому тонкий баланс між генеруванням АФК і рівнем антиоксидантного захисту вважається важливим фактором, який визначає якість сперми кнурів-плідників і зокрема її здатність до запліднення [17]. Доведено, що природні неферментні та ферментні антиоксиданти, які зосередженні переважно у спермальній плазмі, здатні захищати гамети від дії вільних радикалів і токсичних продуктів їх метаболізму [10].

Одним зі способів підтримання стану ПАГ є дотримання норм годівлі та забезпечення тварин поживними речовинами, вітамінами, макро- та мікроелементами. Зокрема, Купрум вважається важливим мікронутрієнтом. Завдяки окисно-відновному потенціалу він є кофактором понад десяти ензимів, серед яких супероксиддисмутаза (СОД) — основний антиоксидантний ензим, який запобігає коливанню радикалів Оксигену, а також бере участь у всіх етапах сперматогенезу [9]. Дефіцит або надлишок цього мікроелемента може призвести до погіршення якості спермопродукції, порушення функцій сім'яників, що, у свою чергу, знижує фертильність у самців [18].

Через низьку засвоюваність мінеральних солей, велику увагу в останні роки почали приділяти вивченню комплексного поєднання металів з біологічно активними речовинами — вітамінами, амінокислотами, органічними кислотами. Ці сполуки краще дисоціюються, акумулюються і перетворюються в метаболічно-активну форму, що дозволяє запобігти антагонізму та збільшити біодоступність мікроелементів. Заміна солей металів їхньою органічною формою (хелатні сполуки) забезпечує підвищення конверсії складових корму, зменшення їх кількості в кормах, знижує вивільнення їх до навколишнього середовища, чим запобігає забрудненню екосистеми [5].

Метою досліджень було встановити вплив цитрату міді на якість спермопродукції та формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі кнурів-плідників. Для досягнення мети виконували такі завдання: дослідити вплив цитрату міді на якість спермопродукції кнурів-плідників; з'ясувати особливості впливу цитрату міді на стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в спермі кнурів-плідників.

Матеріали і методи

Експерименти були проведені в умовах ПрАТ «Племсервіс» і лабораторії фізіології відтворення Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН. Для досліду було відібрано 9 кнурів-плідників великої білої породи — аналогів за віком, живою масою і якістю спермопродукції, з яких сформовано 3 групи тварин по 3 тварини в кожній: I (контрольна), II і III (дослідні). Годівлю кнурів-плідників проводили згідно з інструкцією зі штучного осіменіння свиней. Раціон тварин I групи залишався без змін, а тваринам II та III груп додатково згодовували цитрат міді у кількості 10% та 20% понад добову потребу.

Тривалість експерименту становила 105 діб, зокрема підготовчий період — 30 діб, основний — 45 діб, завершальний — 30 діб. Сперму від кнурів-плідників одержували двічі на тиждень мануальним методом. Якість спермопродукції оцінювали за масою еякуляту, концентрацією і рухливістю сперміїв, а також їхньою виживаністю протягом тригодинного інкубування за температури 38°C [8].

У досліджуваних зразках сперми кнурів визначали показники стану ПАГ. Для оцінки рівня перебігу пероксидного окиснення визначали концентрацію дієнових кон'югатів спектрофотометрично [16] і ТБК-активних комплексів (альдегіди і кетони) — фотоелектроколориметрично [12]. Рівень антиоксидантного захисту визначали за активністю супероксиддисмутази (СОД) фотометрично [2]; активність каталази (КТ) — за методикою М. А. Королюка з використанням ванадій-молібдатної реакції [4], вміст відновленої форми глутатіону — фотоелектроколориметрично з реактивом Елмана [16]; концентрацію аскорбінової і дегідроаскорбінової кислот (АК і ДАК) — за кількістю озозонів модифікованим методом [6].

Отриманий цифровий матеріал статистично опрацьовували за допомогою програми *Statistica* для *Windows XP*. Для порівняння досліджуваних показників та міжгрупових різниць використовували *t*-критерій Стьюдента, а результат вважали вірогідним за $P \leq 0,05$.

Результати

Додаткове згодовування цитрату міді кнурам-плідникам позитивно вплинуло на якісні та кількісні показники спермопродукції (табл. 1). Встановлено, що додаткове введення мінеральної добавки в кількості 10% та 20% сприяло збільшенню маси еякуляту. Так, у кнурів-плідників II групи після завершення основного періоду маса еякуляту була вищою на 12,5% ($P<0,05$), ніж на початку досліджень. Наприкінці завершального періоду маса еякуляту кнурів, які отримували цитрат міді у кількості 20% від норми, була більшою на 12,9% ($P<0,05$) і 18,1% ($P<0,01$) порівняно з I та II групами відповідно.

Концентрація сперміїв в еякуляті кнурів-плідників I групи протягом досліду зменшувалась і після завершення основного періоду була на 11,4% меншою, ніж на початку. Варто зазначити, що використання мінеральної добавки сприяло збільшенню концентрації

спермiїв. Протягом 30 діб експерименту у тварин II та III груп показники концентрації гамет підвищувались, відповідно, на 5,7% і 13,2% (P<0,01), та були вищими від контролю на 10,5–17,6 % (P<0,01). Після закінчення основного періоду найвищу насиченість спермiїв в еякуляті спостерігали в кнурів-плідників III групи, що вище на 17,1% (P<0,01) і 5,7% порівняно з I та II групою відповідно.

Підвищення маси еякуляту та концентрації спермiїв сприяло збільшенню їх загальної кількості, що дало змогу одержати більшу кількість спермодоз від одного кнура-плідника. Тварини, яким згодовували цитрат міді в кількості 20% понад норму, мали на 10,1% (основний) і 14,4% (P<0,05) (завершальний) більшу кількість гамет в еякуляті порівнянно з підготовчим періодом. Після завершення досліду в еякуляті кнурів III групи чисельність спермiїв була більшою порівняно з I і II групами, відповідно, на 9,9% та 18,3% (P<0,05).

Згодовування міді також позитивно впливало на кількість живих спермiїв в еякуляті. Для кнурів, які отримували добавку в кількості 20%, було характерним підвищення активності спермiїв на 20,7% (P<0,01) в основному і на 20,6% (P<0,01) у завершальному періоді. Після закінчення досліду тварини III групи мали більшу кількість живих спермії в еякуляті — на 13,1% і 22,1% (P<0,01) порівняно з I і II групами.

Встановлено, що рухливість спермiїв суттєво залежала від наявності в раціоні добавки міді. В еякуляті кнурів-плідників II та III груп рухливість спермiїв була вищою, відповідно, на 5,5% (P<0,01) і 7,8% (P<0,05) на 30-у добу та на 6,5% (P<0,01) і 9,7% (P<0,001) на 45-у добу порівняно з початком досліду. Після завершення основного періоду цей показник у тварин дослідних груп був вищим, порівняно з контролем, на 7% (P<0,001).

Після завершення першого місяця експерименту виживаність спермiїв була вірогідно більшою на 12,2% (P<0,001) та 13,8% (P<0,001) при згодовуванні цитрату міді в кількості 10% та 20% відповідно, що вище від показників контрольної групи на 6,4% (P<0,01)

Таблиця 1. Вплив цитрату міді на якість спермопродукції кнурів-плідників (M±m)
Table 1. Influence of copper citrate on the quality of boars sperm production (M±m)

Показники Indices	Групи Groups	Період експерименту / Experiment period			
		підготовчий preparatory (n=24)	Основний / Basic		завершальний final (n=24)
			30 доба / 30th day (n=24)	45 доба / 45th day (n=12)	
Маса еякуляту, г Ejaculate volume, ml	I	240,96±6,80	228,42±8,81	260,50±9,58	230,71±6,57
	II	205,25±7,19	197,79±8,43	230,92±9,26*	220,46±8,06
	III	238,67±4,90	216,08±7,09	240,17±6,92	260,37±8,46*°••
Концентрація спермiїв, млн/см³ Spermatozoa concentration, million/cm³	I	212,50±7,71	206,75±8,09	188,33±8,11	217,58±5,95
	II	229,96±7,56	243,04±7,17°°	208,70±5,24°	213,37±8,56
	III	201,67±5,11	228,37±7,54**	220,58±6,55*°°	211,46±6,34
Загальна кількість спермiїв в еякуляті, млрд. The total number of spermatozoa in the ejaculate, billion	I	51,34±2,54	47,91±2,96	48,57±1,99	50,21±2,04
	II	47,26±2,33	48,12±2,57	48,03±1,94	46,64±2,16
	III	48,21±1,69	49,14±2,11	53,10±2,43	55,16±2,64*•
Кількість живих спермiїв в еякуляті, млрд. The number of live spermatozoa in the ejaculate, billion	I	42,33±2,33	40,55±2,37	40,60±2,04	41,84±1,82
	II	39,62±2,15	42,55±2,37	42,74±1,60	38,76±1,89
	III	39,24±1,65	43,02±1,92	47,35±2,24*°	47,31±2,26**••
Рухливість спермiїв, % Spermatozoa mobility, %	I	82,08±1,44	84,58±1,02	83,33±1,36	83,33±0,96
	II	83,75±1,42	88,33±0,76**	89,17±0,79**	82,92±0,93
	III	81,25±1,48	87,60±0,89**	89,17±0,79***	85,83±1,01*•
Виживаність спермiїв, % Spermatozoa survival, %	I	64,17±1,01	65,00±1,02	62,50±1,25	63,33±0,96
	II	61,67±0,76	69,17±0,56***°°	70,00±1,18***°°°	71,25±0,67***°°°
	III	63,33±0,96	72,08±0,83***°°°	66,66±1,36°	67,08±0,92**°°

Примітка. Тут і в наступній таблиці: * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001 порівняно з підготовчим періодом; ° — P<0,05; °° — P<0,01; °°° — P<0,001 порівняно з I групою; • — P<0,05; •• — P<0,01 порівняно з II групою; n — кількість досліджуваних зразків.
Note. Here and in the next table: * — P<0.05; ** — P<0.01; *** — P<0,001 compared to the initial period; ° — P<0.05; °° — P<0.01; °°° — P<0,001 compared with the control group; • — P<0.05; •• — P<0.01 compared with II group; n — the number of test samples.

і 10,9% (P<0,001). Наприкінці основного і завершального періодів найвищі показники виживаності встановлено в кнурів II групи, що більше на 12,0% (P<0,001) і 12,5% (P<0,001) відповідно порівняно з контролем.

Згодовування кнурам-плідникам цитрату міді впливало на стан ПАГ (табл. 2). Встановлено, що активність ензимів антиоксидантного захисту коливалась залежно від кількості в раціоні цього мікроелемента. У ході дослідження було виявлено збільшення активності СОД, однак спостерігали тенденцію зниження КТ. Активність СОД у спермі кнурів-плідників II групи після закінчення основного та завершального періодів збільшувалась на 80,6% (P<0,05) та 47,2% відповідно. Найвищий рівень СОД було відзначено у тварин III групи на 30-у добу експерименту, що було вище порівняно з I та II групами, відповідно, на 68,1% (P<0,01) та 99,2% (P<0,001). Рівень КТ протягом основного періоду досліду зменшувався у всіх групах тварин, однак збільшення кількості міді в раціоні понад норму на 10% призводило до вірогідного зниження цього ензиму на 45-у добу експерименту в 1,4 раза (P<0,05), що нижче в 1,3 раза порівняно з контролем.

Таблиця 2. Стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі кнурів-плідників (M±m)
Table 2. State of prooxidant-antioxidant homeostasis in the sperm of boars (M±m)

Показники Indexes	Групи Groups	Період експерименту / Experiment period			
		підготовчий preparatory (n=24)	Основний / Basic		завершальний final (n=24)
			30 доба / 30th day (n=24)	45 доба / 45th day (n=12)	
Супероксидисмутаза, у.о./мл Superoxidedismutase, unit/ml	I	0,371±0,044	0,313±0,027	0,410±0,046	0,354±0,038
	II	0,284±0,039	0,264±0,029	0,513±0,083*	0,418±0,080
	III	0,444±0,046	0,526±0,053°°•••	0,529±0,114	0,503±0,089
Каталаза, H_2O_2/хв./л Catalase, H_2O_2/min/l	I	27,85±3,40	23,99±4,07	19,6±4,26	19,20±2,66
	II	25,11±3,83	23,23±3,54	14,18±2,16*	21,69±2,69
	III	22,33±3,62	24,05±3,86	15,68±2,12	21,87±2,68
Відновлений глутатіон, мкмоль/л Reduced glutathione, μmol/l	I	0,327±0,056	0,305±0,043	0,358±0,061	0,295±0,050
	II	0,337±0,074	0,266±0,029	0,281±0,042	0,268±0,041
	III	0,332±0,057	0,218±0,026	0,245±0,033	0,229±0,028
Аскорбінова кислота, мкмоль/л Ascorbic acid, μmol/l	I	8,69±1,25	10,36±1,23	8,73±0,99	10,74±0,89
	II	10,52±0,85	9,25±0,88	10,27±0,90	12,97±0,79*
	III	8,25±0,65	9,69±0,99	10,32±1,04	10,95±0,93*
Дегідроаскорбінова кислота, мкмоль/л Dehydroascorbic acid, μmol/l	I	8,86±1,12	10,28±1,00	7,20±1,03	10,26±1,11
	II	10,84±0,84	12,45±1,08	8,76±1,28	7,54±0,79**
	III	8,43±0,71	14,75±1,27***°	14,17±1,04***°°°••	13,16±0,89***•••
Бета та пре-беталіпопротеїди, мкмоль/л Beta and pre-betalipoproteins, μmol/l	I	3,05±0,32	2,84±0,21	2,68±0,33	2,95±0,26
	II	3,43±0,41	3,96±0,46	3,85±0,41	3,76±0,47
	III	3,76±0,34	4,16±0,52	3,26±0,46	2,46±0,33*
Дієнові кон'югати, мкмоль/л Diene conjugates, μmol/l	I	1,72±0,21	1,58±0,27	1,40±0,35	1,63±0,29
	II	1,73±0,23	1,94±0,33	1,53±0,26	1,35±0,24
	III	1,46±0,22	1,74±0,31	2,29±0,45	2,19±0,21*•••
ТБК-активні сполуки до інкубування, мкмоль/л TBA-active compounds before incubation, μmol/l	I	26,46±3,41	22,07±3,21	25,17±3,36	21,40±3,21
	II	24,42±2,24	30,05±4,07	29,80±4,04	26,91±2,66
	III	21,47±3,14	26,68±3,68	30,64±4,12*	23,33±3,50
ТБК-активні сполуки після інкубування, мкмоль/л TBA-active compounds after incubation, μmol/l	I	36,86±3,70	28,44±3,43	32,41±3,71	33,20±4,09
	II	32,25±2,91	31,42±4,05	31,75±4,02	28,24±2,72
	III	30,87±3,37	28,27±3,71	32,68±4,16	29,97±3,78

Таблиця 3.Відтворювальна здатність свиноматок (M±m)
Table 3. Reproductive capacity of sows (M±m)

Групи Groups	Осіменено свиноматок Inseminated sows	Відтворювальні якості свиноматок / Reproductive qualities of sows					
		Заплід-неність, % Fertility, %	Кількість новонароджених поросят Number of newborn piglets		Велико-плідність, кг Large-foetus, kg	Маса гнізда при народженні, кг Litter weight at birth, kg	Маса гнізда при відлученні, кг Litter weight at weaning, kg
			Всього Total	у т.ч. живих including alive			
I	30	86,7	10,8±0,19	10,6±0,17	1,35±0,019	14,45±0,28	85,77±1,97
II	30	93,3	11,2±0,18**	11,0±0,17**	1,31±0,024	14,41±0,21 ***	94,04±2,20***°°
III	30	80,0	10,4±0,22	10,1±0,19	1,29±0,023°	13,03±0,24°°°	75,43±1,83°°°

Примітка. * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001 порівняно з III групою; ° — P<0,05; °° — P<0,01; °°° — P<0,001 порівняно з I групою.
Note. * — P<0.05; ** — P<0.01; *** — P<0,001 compared with III group; ° — P<0.05; °° — P<0.01; °°° — P<0.001 compared with I group.

У досліджуваних зразках сперми кнурів-плідників, які додатково отримували добавку міді в кількості 20% понад норму, спостерігали підвищення процесів пероксидації, про що свідчить збільшення первинних та вторинних продуктів пероксидного окиснення. Концентрація дієнових кон'югантів у спермі тварин III групи зростала протягом всього дослідження: наприкінці основного періоду — на 56,8%, що порівняно з I та II групами на 63,6% та 49,7% більше відповідно; наприкінці завершального періоду — на 50% (P<0,05), що порівняно з I та II групами більше на 34,4% і 62,2% (P<0,001).

У кнурів-плідників II та III груп вміст ТБК-активних сполук у секреті після завершення основного періоду був вищим, відповідно, на 22% та 42,7% (P<0,05), що більше на 18,4% та 21,7% порівняно з I групою. Однак після інкубування сперми у прооксидантному буфері рівень цих метаболітів у тварин контрольної групи зростав на 28,9% на 30-у добу, на 28,8% на 45-у добу і на 55,2% у завершальному періоді. У досліджуваних зразках тварин, яким згодовували добавку міді в кількості 10% та 20% понад норму, цей показник істотно не змінювався.

У спермі кнурів-плідників контрольної групи протягом експерименту вміст аскорбінової кислоти коливався. Проте у тварин, яким згодовували кормову добавку, рівень цієї кислоти після закінчення основного періоду був вищим на 17,6% (II група) і 18,2% (III група). Після завершення експерименту концентрація АК була найвищою у тварин II групи.

Встановлено вірогідне збільшення вмісту ДАК у спермі кнурів-плідників, які додатково отримували добавку міді в кількості 20%. У тварин цієї групи вміст цієї кислоти протягом експерименту збільшувався: на 74,9% (P<0,001) — на 30-у добу, на 68,1% (P<0,001) — на 45-у добу, на 56,1% (P<0,001) — на 75-у добу. Після закінчення основного та завершального періодів у тварин III групи цей показник був вищим, порівняно з I та II групами, у 2 рази (P<0,001) і 1,6 раза (P<0,01) та в 1,3 раза і 1,7 раза (P<0,001) відповідно.

Кнури-плідники, яким згодовували цитрат міді понад норму на 10% та 20%, характеризувались більшим вмістом бета та пре-бета ліпопротеїдів у спермі. В досліджуваних зразках тварин II групи після закінчення основного та завершального періодів кількість ліпідів була більшою, порівняно з I та III групою, на 43,6% і 18,1% та 27,5% і 52,8% (P<0,05) відповідно. Ймовірно, на тлі збільшення вмісту ліпопротеїдів і ДАК відбулось зниження відновленого глутатіону у дослідних групах тварин. У спермі кнурів-плідників II та III груп протягом всього періоду дослідження рівень цього показника зменшувався і після закінчення завершального періоду був нижчим, відповідно, на 20,5% та 31% відносно початку.

Після закінчення основного періоду досліду заплідненість свиноматок, яких осіменяли спермою кнурів-плідників II групи, становила 93,3%, що вище на 7,1% і 14,3% порівняно з I і III групами відповідно. Ці ж свиноматки мали більшу кількість новонароджених і живих поросят, що вище на 3,6% і 7,1% (P<0,01) та 3,6% і 8,2% (P<0,01) від показників I та III груп відповідно. Маса гнізда при народженні та відлученні у свиноматок, закріплених за кнурами II групи, була вищою, порівняно з III групою, на 9,6% (P<0,001) та 19,8% (P<0,001) відповідно.

Найнижчі показники відтворної здатності мали свиноматки III групи: зниження заплідненості на 7,7%, вірогідне зменшення великоплідності на 4,8% (P<0,05), маси гнізда при народженні — на 9,8% (P<0,001) і при відлученні — на 12,1% (P<0,001) порівняно з контролем.

Обговорення

Отримані результати досліджень свідчать про вплив цитрату міді на функціональну активність сперміїв та формування ПАГ у спермі кнурів-плідників, що проявляється насамперед збільшенням кількості живих сперміїв в еякуляті. Очевидно, це зумовлено підвищенням рухливості гамет через посилення активності СОД та збільшенням вмісту АК [3]. При цьому високий рівень активності сперміїв у поєднанні з великою кількістю поліненасичених жирних кислот в їхній

мембрані призводить до підвищення процесів пероксидації, тобто збільшення вмісту дієнових кон'югантів та ТБК-активних сполук, що проявляється зниженням виживаності сперміїв у тварин, яким згодовували мінеральну добавку в максимальній дозі [11,14].

У спермі кнурів-плідників, яким додатково згодовували мідь у невеликій кількості (10%), зміни стану ПАГ проявлялись незначним зниженням вмісту дієнових кон'югантів та ТБК-активних сполук, що свідчить про гальмування процесу ПОЛ. Такі зміни супроводжувало підвищення активності СОД та зниження КТ, що підтверджують дані Л. І. Колесникової [3]. Однак зі збільшенням кількості згодовуваної міді (20%) відбувається прискорення процесів пероксидації у спермі кнурів-плідників, що проявляється у підвищенні вмісту метаболітів — дієнових кон'югантів і ТБК-активних сполук та водночас інтенсивним використанням глутатіону та активацією СОД. Про близькі особливості формування ПАГ у спермі цього виду тварин після вживання великих доз мікроелемента повідомляли С. О. Усенко та В. О. Рокотянська [14, 19]. Це пов'язано з тим, що мідь у формі вільного металу є каталізатором при утворенні супероксидних та гідроксильних радикалів (реакція Габера-Вейса) [15]. Висока концентрація цього елемента призводить до незворотної іммобілізації, зниженні акросомної реакції, пошкодження ліпідів та білків клітинних мембран, деструкції ДНК, що негативно впливає на рухливість, виживаність та запліднювальну здатність сперміїв [1].

Встановлений позитивний вплив згодовування цього елемента на запліднювальну здатність сперміїв кнурів-плідників, який, очевидно, обумовлений акумулюванням міді в організмі, спричиняє комплекс біохімічних перетворень у спермі, насамперед у формуванні ПАГ. Однак істотне підвищення кількості згодовуваного мікроелемента незначно знижує їхню репродуктивну здатність, що підтверджують дані L. Roblero [13], де в основі лежить порушення взаємозв'язку сперміїв з ооцитами, а отже, і процесу запліднення. Саме тому чіткі норми годівлі кнурів-плідників за вмістом міді є запорукою для нормального перебігу сперматогенезу, а отже, одним із факторів впливу на їхню фертильність.

Висновки

1. Встановлено, що додаткове згодовування кнурам-плідникам цитрату міді в кількості 10% понад норму сприяє вірогідному підвищенню маси еякуляту ($P<0,05$), рухливості ($P<0,01$) та виживаності сперміїв ($P<0,001$) на 45-ту добу споживання. Такі зміни відбуваються на тлі збільшення активності СОД на 80,6% ($P<0,05$) з одночасним зменшенням КТ на 43,5% ($P<0,05$), зниженням дієнових кон'югатів і ТБК-активних сполук.

2. Додаткове введення до раціону цитрату міді на 20% більше від норми вірогідно підвищує концентрацію сперміїв ($P<0,01$), їхню рухливість та виживаність ($P<0,001$) після 30-ї доби експерименту. Збільшення терміну згодовування цього елемента підвищує кількість живих сперміїв в еякуляті на 20,7% ($P<0,01$), однак їхня здатність до виживання зменшується, що супроводжується інтенсифікацією процесів пероксидації.

3. Кількісні та якісні показники сперми залежать від вмісту згодовуваної добавки в раціоні. Додавання цитрату міді понад норму на 20%, порівняно з 10%, підвищує масу еякуляту на 18,1% ($P<0,01$), загальну кількість сперміїв на 18,3% ($P<0,05$), кількість живих сперміїв на 22,1% ($P<0,01$) і їхню рухливість 3,5% ($P<0,05$). Однак виживаність сперміїв у кнурів-плідників II групи була вищою на 6,2% ($P<0,01$) від показника III групи. Встановленні відмінності зумовлені особливостями формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу: переважання активності СОД на 99,2% ($P<0,001$), вмісту ДАК — на 74,5% ($P<0,001$) і дієнових кон'югатів — на 62,2% ($P<0,001$), що свідчить про підвищення процесів пероксидації на 45-у добу споживання у тварин, які отримували максимальний рівень міді.

4. Встановлено, що додаткове згодовування 10% органічної форми міді підвищує репродуктивні показники свиноматок: заплідненість — на 7,1%, багатоплідність — 3,6%, масу гнізда при відлученні — на 9,6%. Осіменіння спермодозами кнурів-плідників, які отримували максимальну дозу (20%) цього мікроелемента, знижує відтворювальні показники свиноматок, порівняно з I та II групою, відповідно: заплідненість — на 7,7% та 14,3%, кількість новонароджених поросят — на 3,6% і 7,1% ($P<0,01$), великоплідність — на 4,4% ($P<0,05$) та 1,5%, масу гнізда при народженні — на 9,8% ($P<0,001$) та 9,6% ($P<0,001$), при відлученні — на 12,1% ($P<0,001$) та 19,8% ($P<0,001$), що, вочевидь, зумовлено різними особливостями формування прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу у спермі.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження полягають у з'ясуванні характеру впливу біологічно активних речовин природного походження на фізіологічні процеси в організмі кнурів-плідників і свиноматок, що дозволить ефективніше використовувати програми направленого живлення для покращення їхньої відтворної здатності.

1. Espinosa CD, Stein HH. Digestibility and metabolism of copper in diets for pigs and influence of dietary copper on growth performance, intestinal health, and overall immune status: a review. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2021; 12: 13. DOI: 10.1186/s40104-020-00533-3.
2. Kaydashev IP. *Handbook of Experimental and Clinical Research in Biology and Medicine*. Poltava, 1996: 123–128. (in Ukrainian)
3. Kolesnikova LI, Kurashova NA, Grebenkina LA, Dolgih MI, Vlasov BY, Neronova NA, Kirilenko EA. Superoxide dismutase and glutathione-dependent enzymes in sperm of men with chronic monotrichonadal infection. *Bulletin VSNTS SB RAMS*, 2010; 6 (76): 34–36. (in Russian)

4. Korolyuk MA, Ivanova LI, Majorova IG, Tokarev EV. Method for determining the activity of catalase. *Lab. Work*. 1988: 1: 16–19. (in Russian)
5. Kosov NA. The use of chelated compounds of trace elements in pigs feeding. *Zootech. Sci. Belarus*. 2020: 368–373. (in Belarussian)
6. Kovalenko VF, Shostya AM, Usenko SO. *Method for accelerated determination of C content and its isomers in boar semen*. Patent UA no. 67054A. 15.06.2004. (in Ukrainian)
7. Martins VED, Pinto SCC, Chaves RM, Barros Filho AKD, Laskoski LM, Souza, FA. Antioxidant effect on viability of boar semen cooled to 15°C. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 2020; 72 (1): 145–152. DOI: 10.1590/1678-4162-11294.
8. Melnik YF. *Instructions for Artificial Insemination of Pigs*. Kyiv, Agrarian Science. 2003. (in Ukrainian)
9. Ogórek M, Gąsior Ł, Pierzchała O, Daszkiewicz R, Lenartowicz M. Role of copper in the process of spermatogenesis. *Postepy Hig. Med. Dosw*. 2017; 71: 662–680. DOI: 10.5604/01.3001.0010.3846.
10. Parrilla I, Martinez, EA, Gil MA, Cuello C, Roca J, Rodriguez-Martinez H, Martinez CA. Boar seminal plasma: current insights on its potential role for assisted reproductive technologies in swine. *Anim. Reprod.* 2020; 17 (3). DOI: 10.1590/1984-3143-ar2020-0022.
11. Podufalij VV, Cherkashina IV, Kuchkov IN. Processes of lipid peroxidation in the active-mobile fraction of human sperm isolated before and after cryopreservation. *Probl. Cryobiol*. 2008; 18 (4): 520–523. (in Russian)
12. Ribalko VP. *Modern Research Methods in Pig Breeding*. Poltava, 2005: 114–123. (in Ukrainian)
13. Roblero L, Guadarrama A, Lopez T, Zegers-Hochschild F. Effect of copper ion on the motility, viability, acrosome reaction and fertilizing capacity of human spermatozoa *in vitro*. *Reproduction, Fertility and Development*. 1996; 8 (5): 871–874. DOI: 10.1071/RD9960871.
14. Rokotyanska VO. *Features of prooxidant-antioxidant homeostasis in the semen of breeding boars with correction of vitamin and mineral nutrition*. Diss. Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv; 2020: 159 p. (in Ukrainian)
15. Roychoudhury S, Nath S, Massanyi P, Stawarz R, Kacaniova M, Kolesarova A. Copper-induced changes in reproductive functions: *in vivo* and *in vitro* effects. *Physiol. Res*. 2016; 65: 11–22. DOI: 10.33549/physiolres.933063.
16. Shabunin SV. *Methodological provisions for the study of free radical oxidation processes in the antioxidant defense system of the body.* Voronezh, 2010: 36–37; 51–52. (in Russian)
17. Surai PF, Fisinin VI. Selenium in pig nutrition and reproduction: boars and semen quality — a review. *AJAS*. 2015; 28 (5): 730–746. DOI: 10.5713/ajas.14.0593.
18. Tvrda E, Peer R, Sikka SC, Agarwal A. Iron and copper in male reproduction: a double-edged sword. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015; 32 (1): 3–16. DOI: 10.1007/s10815-014-0344-7.
19. Usenko SO, Shostya AM, Stoyanovskij VG, Birta GO, Kuzmenko LM, Slynko VG. Prooxidant-antioxidant homeostasis in the incubated semen of breeding boars during feeding of lactates of microelements. *Sci. Rep. NULES of Ukraine*. 2020; 2 (84): 14 p. DOI: 10.31548/dopovidi2020.02.017. (in Ukrainian)
20. Vongpralub T, Thananurak P, Ssttikasamkit C, Chuawongboon P, Duangjinda M, Boonkum W, Chankitisakul V. Comparison of effects of different antioxidants supplemented to long-term extender on boar semen quality following storage at 17°C. *Thai J. Vet. Med*. 2016; 46 (1): 119–126. Available at: https://he01.tci-thaijo.org/index.php/tjvm/article/view/49791

Prooxidant-antioxidant homeostasis and reproductive capacity of boars under the influence of copper citrate

A. S. Siabro
siabro.aliona@gmail.com

Poltava State Agrarian Academy,
1/3 Skovorody str., Poltava, 36003, Ukraine

Peroxide oxidation processes play a leading role in ensuring the motility, survival and fertilizing ability of sperm. A special role is given to limiting antioxidants (vitamins, amino acids, microelements). Therefore, the development of standardized feeding programs to provide antioxidant nutrition is one of the effective methods of reproductive biotechnology. The aim of the study was to determine the effect of copper citrate on the quality of sperm production and the formation of prooxidant-antioxidant homeostasis in sperm of boars. The experiment used adult boars of a large white breed, analogs in age, live weight and quality of sperm products. Experimental groups were fed copper citrate above the norm by 10% and 20%. It has been determined that feeding combined feed to boars with the addition of this compound in an amount of 10% above norm probably increases the weight of ejaculate by 12.5% ($P<0.05$), the sperm motility and survival by 6.5% ($P<0.01$) and 13.5% ($P<0.001$), respectively. Such changes in sperm occur against the background of an increase in SOD activity by 80.6% ($P<0.05$), a decrease in catalase by 43.5% ($P<0.05$), a slowing down of peroxidation processes — a decrease in diene conjugates and TBA-active compounds. The additional introduction to the diet of copper citrate by 20% more than normal increases the concentration of spermatozoa by 13.2% ($P<0.01$), the number of live spermatozoa by 20.7% ($P<0,01$), with a simultaneous decrease in their survival, due to the acceleration of peroxidation processes — an increase in the content of diene conjugates, TBA-active compounds and DAA and a decrease in reduced glutathione. It has been found out that the fertilizing ability of sperm significantly depended on the amount of fed microelement. Sows inseminated with sperm of boars receiving copper supplement in the diet by 10%, had higher fertility rates by 7.1%, multifertility by 3.6%, and a litter weight at weaning by 8.8%. The additional administration of copper citrate reduced the fertility of sperm by 20%, as the fertility rate of sows of III group was the lowest and was 7.7% and 14.3% lower compared to I and II groups. A similar trend occurred in terms of high fertility, a litter weight at birth and weaning. Therefore, the additional feeding of a small amount of copper has a positive effect on the functional activity of sperm and the processes of normal fertilization, growth and development of embryos and newborn piglets by optimizing the formation of prooxidant-antioxidant homeostasis.

Key words: boars, copper citrate, sperm production, peroxide oxidation, reproduction

Siabro AS. Prooxidant-antioxidant homeostasis and reproductive capacity of boars under the influence of copper citrate. *Biol. Tvarin*. 2021; 23 (2): 12–18. DOI: 10.15407/animbiol23.02.012.