



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **119709** (13) **U**

(51) МПК (2017.01)

A61D 7/00

G01N 21/17 (2006.01)

G01N 33/487 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2017 01927	(72) Винахідник(и): Волощук Олександр Васильович (UA), Іванов Володимир Олександрович (UA), Гришина Людмила Павлівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 28.02.2017	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ СВИНАРСТВА І АГРОПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА НААН, вул. Шведська могила, 1, м. Полтава, 36013 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.10.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.10.2017, Бюл.№ 19	

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ СПЕРМІЇВ КНУРІВ ЗА АКТИВНІСТЮ ДЕГІДРОГЕНАЗ У НАТИВНІЙ І РОЗБАВЛЕНІЙ СПЕРМІ

(57) Реферат:

Спосіб оцінки спермій кнурів за активністю дегідрогеназ у нативній і розбавленій спермі передбачає змішування сперми кнура з 0,2 мл 0,01 %-ного розчину метиленового синього на 1 %-ному розчині хлористого натрію та інкубування в термостаті при температурі +40 °С. Оцінку спермій за активністю дегідрогеназ визначають за терміном знебарвлення 0,005 % розчину метиленового синього, який змішують з нативною і розбавленою спермою в співвідношенні 1:1 та інкубують при температурі +18 °С.

UA 119709 U

Корисна модель належить до галузі сільського господарства, а саме до тваринництва, і може бути використана для штучного запліднення свиней.

Відомий спосіб оцінки сперми кнурів за активністю дегідрогеназ. Спосіб здійснювали наступним чином. У пеніциліновий флакон наливали 0,5 мл сперми кнура і добавляли 0,2 мл 0,01 %-ного розчину метиленового синього на 1 %-ному розчині хлористого натрію. Після розмішування сперму набирали у скляні трубки і клали в термостат при температурі +40 °С. Тривалість знебарвлення перераховували на стандартну концентрацію спермій - 70 млн./мл. Сперма відмінної якості знебарвлювалась за 17 хв., хорошої - за 18-23 хв. і незадовільної - більш ніж за 23 хв. [1].

Недоліком даного способу є те, що при визначенні якості сперми не враховуються ряд таких важливих факторів як рухливість спермій та термін короткочасного їх зберігання в умовах пунктів штучного осіменіння.

Проблема полягає в тому, що існує високовірогідна кореляція між активністю сукцинатдегідрогенази ($p < 0,001$), концентрацією рухливих спермій ($r = 0,57$) і загальним числом рухомих спермій в еякуляті ($r = 0,62$). Рухливість спермій свіжоотриманих еякулятів також пов'язана з активністю сукцинатдегідрогенази ($r = 0,43$; $p < 0,001$). Тому для точнішої оцінки якості сперми за активністю дегідрогеназ дуже важливо враховувати рухливість спермій за короткого терміну зберігання [2].

Крім того, для реалізації способу необхідно мати термостат для інкубування сперми.

В основу корисної моделі поставлена задача спростити спосіб шляхом врахування рухливості спермій за короткого терміну зберігання та економії метиленового синього.

Поставлена задача вирішується тим, що оцінку спермій за активністю дегідрогеназ визначають за терміном знебарвлення 0,005 % розчину метиленового синього, який змішують з нативною і розбавленою спермою в співвідношенні 1:1 та інкубується при температурі +18 °С.

До відмінної якості відносять нативну сперму, у якій термін знебарвлення 0,005 % розчину метиленового синього відбувається за 13-14 хвилин при активності спермій 8-9 балів.

До доброї якості відносять нативну сперму, у якій термін знебарвлення 0,005 % розчину метиленового синього відбувається за 17-22 хвилини при активності спермій 6-7 балів.

До доброї якості відносять розбавлену сперму, у якій термін знебарвлення 0,005 % розчину метиленового синього відбувається за 21,0-22,0 хвилин при активності спермій 6-7 балів.

До задовільної якості відносять розбавлену сперму, у якій термін знебарвлення 0,005 % розчину метиленового синього відбувається за 24 хвилин при активності спермій 5 балів.

Спосіб здійснюється наступним чином. Від кожного кнура відбирають по 6 мл нативної (у 2 флакони по 3 мл) та по 6 мл розбавленої сперми (також у 2 флакони по 3 мл).

Сперму розбавляють через 30-60 хв. після її одержання синтетичним середовищем німецького виробництва фірми «Міні-Тюб» BTS. Ступінь розбавлення розраховують так, щоб в одному мілілітрі розбавленої сперми містилось 50 млн. біологічно повноцінних спермій, залежно від показників їх рухливості та концентрації у нативній спермі (від 1:1,5 до 1:3,5).

Враховуючи, що в спермі кнурів досить низький вміст вуглеводів і одержання енергії у безкисневому середовищі у них здійснюється переважно за рахунок ліпідів [3], проводять інкубацію за різної концентрації метиленової синьки (табл. 1).

Таблиця 1

Результати інкубації сперми за різної концентрації метиленового синього

Концентрація метиленового синього, %	Відсоток знебарвлених еякулятів при температурі інкубації	
	18 °С	38 °С
0,010	50-52	55-60
0,003	75-77	77-80
0,005	100	100

Встановлено, що концентрація метиленового синього 0,01 % є надмірною для обезбарвлення сперміями кнурів. Понад 50 % еякулятів не знебарвлювались розбавлені таким розчином. Тому ми зменшили концентрацію метиленового синього у двічі (до 0,005 %).

Дані таблиці 1 свідчать про те, що концентрація метиленового синього в дозі 0,005 % є найбільш сприятливою для інкубації сперми.

Далі в нативну сперму, з концентрацією спермійв 150-200 млн./мл, вводять розчин метиленового синього в співвідношенні 1:1 та інкубують по одному флакону при температурі +38 °С в термостаті і по одному флакону за кімнатної температури +18 °С.

Результати інкубації наведено в таблиці 2 і 3.

5

Таблиця 2

Результати інкубації нативної сперми за різного терміну інкубування

Активність спермійв, бали	Температура інкубування за найближчим аналогом, °С	Термін знебарвлення метиленового синього, години	Температура інкубування за новим способом, °С	Термін знебарвлення метиленового синього, години
9	38	10,0	18	13
8	38	9,5	18	14
7	38	13,0	18	17
6	38	18,0	18	22

Дані таблиці 2 свідчать про те, що сперма розбавлена 0,005 % розчином метиленового синього в співвідношенні 1:1 при 9, 8, 7 і 6-ти балах рухливості спермійв знебарвлює індикатор відповідно за 13, 14, 17 і 22 години.

10

Таблиця 3

Результати інкубації розбавленої сперми за різного терміну інкубування

Активність спермійв, бали	Температура інкубування за прототипом, °С	Термін знебарвлення метиленового синього, години	Температура інкубування за новим способом, °С	Термін знебарвлення метиленового синього, години
7	38	17	18	21
6	38	16,0	18	22,0
5	38	20,0	18	24,0
4	38	27,0	18	30,0
3	38	28,0	18	33,0

Дані таблиці 3 свідчать про те, що сперма розбавлена 0,005 % розчином метиленового синього в співвідношенні 1:1 при 7, 6 і 5-ти балах рухливості спермійв знебарвлює індикатор відповідно за 21,0; 22,0; 24,0 години. Аналізувати сперму активністю нижче 5 балів не доцільно, так як її не рекомендують до використання.

15

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє проводити оцінку спермійв кнурів за активністю дегідрогеназ у нативній і розбавленій спермі в умовах звичайних лабораторій штучного запліднення без використання дорогих термостатів, в умовах кімнатної температури (18 °С). Причому термін тестування не сильно відрізняється від найближчого аналога.

20

Джерела інформації:

1. Прокопцев В.М. Технология искусственного осеменения свиней. - Л.: Колос, 1981. - 160 с.
2. Антонюк В.С. Взаимосвязь физиологических функций и биохимических свойств спермы хряков: дис....докт. биол. наук. 03.00.13. Антонюк Виталий Степанович. - Жодино, 1984. - 343 с.
3. Милованов В.К. Биология воспроизведения и искусственное осеменение животных. - М.: Сельхозгиз, 1962. - 696 с.

25

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб оцінки спермійв кнурів за активністю дегідрогеназ у нативній і розбавленій спермі, який передбачає змішування сперми кнура з 0,2 мл 0,01 %-ного розчину метиленового синього на 1 %-ному розчині хлористого натрію та інкубування в термостаті при температурі +40 °С, який **відрізняється** тим, що оцінку спермійв за активністю дегідрогеназ визначають за терміном знебарвлення 0,005 % розчину метиленового синього, який змішують з нативною і розбавленою спермою в співвідношенні 1:1 та інкубують при температурі +18 °С.

30

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що до відмінної якості відносять нативну сперму, у якій термін знебарвлення 0,005 % розчину метиленового синього відбувається за 13-14 хв. при активності сперміїв 8-9 балів.
- 5 3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що до доброї якості відносять нативну сперму, у якій термін знебарвлення 0,005 % розчину метиленового синього відбувається за 17-22 хв. при активності сперміїв 6-7 балів.
4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що до доброї якості відносять розбавлену сперму, у якій термін знебарвлення 0,005 % розчину метиленового синього відбувається за 21,0-22,0 хв. при активності сперміїв 6-7 балів.
- 10 5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що до задовільної якості відносять розбавлену сперму, у якій термін знебарвлення 0,005 % розчину метиленового синього відбувається за 24 хвилин при активності сперміїв 5 балів.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601