

## **ВПЛИВ ПРОЗЕРИНУ НА ПОКАЗНИКИ СПЕРМОПРОДУКЦІЇ БАРАНІВ У ВЕСНЯНИЙ ПЕРІОД**

**І. В. Лобачова**, кандидат сільськогосподарських наук,  
старш. наук. співроб.

ORSID: 0000-0001-5837-8530

Інститут тваринництва степових районів імені М. Ф. Іванова  
«Асканія-Нова» - Національний науковий селекційно-генетичний  
центр з вівчарства

вул. Соборна, 1, смт Асканія-Нова, Чаплінський р-н,  
Херсонська обл., 75230, Україна  
e-mail: ascitsr\_priemnaya@ukr.net

Надійшла 12.05.2020

**Мета.** Визначити доцільність застосування препарату антихолінестеразної дії «Прозерин» для поліпшення якості сперми баранів у анестральний сезон. **Методи.** Дослідних тварин піддавали триразовим ін'єкціям препарату (1 мл/гол./ін.) з інтервалом 3–4 доби. Вплив препарату вивчали за різницею показників нативної сперми (активності, об'єму еякуляту, кількості сперміїв в еякуляті), її виживаності при фасуванні у пайети та скляні флакони, гематології та біохімічних показників крові дослідних і контрольних тварин. **Результати.** Обробка прозерином не попереджувала сезонного погіршення якості сперми, але обумовила більш виразне збільшення показника активності через 4 і його більш різке зниження через 7 діб після останньої ін'єкції прозерину. Об'єм еякуляту дослідних баранів значно зменшився на 11-у добу і зріс до показника контрольних тварин лише на 26-у добу. Разом з тим, абсолютна виживаність сперми, фасованої у пайети, у дослідних тварин на 26-у добу майже вдвічі перевищувала аналогічний показник контрольних баранів ( $p > 0,05$ ). Також спостережено різницю за зміною вмісту білкових фракцій в крові дослідних та контрольних тварин. **Висновки.** Обробка баранів-плідників препаратом «Прозерин» у анестральний період сприяє поліпшенню якості сперми на 4-у та її погіршенню на 7-у добу після останньої ін'єкції і може бути рекомендована лише за короткочасного (не більше 7 діб) використання тварин для отримання сперми.

**Ключові слова:** вівчарство, відтворення, регулювання, сперма, інгібітор ацетилхолінестерази, анестральний сезон.  
DOI: <https://doi.org/10.33694/2617-0787-2020-1-13-59-68>

## ***EFFECT of PROSERIN on INDEXES of RAM SEMEN PRODUCTION at SPRING PERIOD***

**I. V. Lobachova**, Candidate of Agricultural Sciences,  
Senior Researcher

ORSID: 0000-0001-5837-8530

“Ascania Nova” Institute of Animal Breeding in the Steppe Regions  
Named after M. F. Ivanov - National Scientific Selection-Genetics  
Center for Sheep Breeding  
1, Soborna Street, Askania Nova, Chaplynka district,  
Kherson region, 75230, Ukraine  
e-mail: [ascitsr\\_priemnaya@ukr.net](mailto:ascitsr_priemnaya@ukr.net)

**Aim.** *To determine the feasibility of use of the drug with anticholinesterase activity "Proserin" to improve the quality of ram semen at the anestrus season. **Methods.** Experimental animals were subjected to three injections of the drug (1 ml/anim./inj.) with an interval of 3–4 days. The effect of the drug was studied by the difference between the indexes of fresh semen (activity, ejaculate volume, sperm amount in ejaculate), the survival of sperm packed in straws and glass vials, hematology and blood biochemical parameters of experimental and control animals.*

**Results.** *Proserine treatment did not prevent a seasonal deterioration in semen quality, but caused a more pronounced increase in activity index after 4 days and its more dramatic decrease 7 days after the last injection of the drug. The ejaculate volume of the experimental rams decreased significantly on the 11-th day and increased to the values of the control animals only on the 26-th day. At the same time, the absolute survival of sperm packed in straws in experimental animals on the 26th day was almost twice higher that of the control rams ( $p>0.05$ ). In addition, there was a difference in the change in the content of protein fractions in the blood of experimental and control animals. **Conclusions.** Treatment of rams with the drug "Proserin" in the anestrus period improves semen quality on the 4-th and its deterioration on the 7-th day after the last injection and can be recommended only for short-term (not more than 7 days) use of animals to obtain sperm.*

**Keywords:** sheep breeding, reproduction, regulation, sperm, acetylcholinesterase inhibitor, anestrus season.

DOI: <https://doi.org/10.33694/2617-0787-2020-1-13-59-68>

## **ВЛИЯНИЕ ПРОЗЕРИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМОПРОДУКЦИИ БАРАНОВ В ВЕСЕННИЙ ПЕРИОД**

**И. В. Лобачева**, кандидат сельскохозяйственных наук,  
старш. науч. сотруд.

ORSID: 0000-0001-5837-8530

Институт животноводства степных районов имени М. Ф. Иванова  
«Аскания-Нова» - Национальный научный селекционно-  
генетический центр по овцеводству  
ул. Соборная, 1, пгт. Аскания-Нова, Чаплинский р-н,  
Херсонская обл., 75230, Украина  
e-mail: ascitsr\_priemnaya@ukr.net

**Цель.** Определить целесообразность применения препарата с антихолинэстеразной активностью «Прозерин» для улучшения качества спермы баранов в анэстральный сезон. **Методы.** Опытных животных подвергали трехразовым инъекциям препарата (1 мл/гол./ин.) с интервалом 3–4 дня. Влияние препарата изучали по разнице показателей нативной спермы (активность, объем эякулята, количество спермы в эякуляте), ее выживаемости при фасовке в пайеты и стеклянные флаконы, гематологии и биохимическим показателям крови. **Результаты.** Обработка прозерином не предотвращала сезонного ухудшения качества спермы, но обусловила более выразительное увеличение показателя активности через 4 дня и его более резкое уменьшение через 7 дней после последней инъекции препарата. Объем эякулята у подопытных баранов значительно уменьшился на 11-й день и увеличился до значений контрольных животных только на 26-й день. Вместе с тем, абсолютная выживаемость спермы в пайетах у подопытных животных на 26-й день почти вдвое превышала аналогичный показатель контрольных баранов ( $p > 0,05$ ). Также наблюдалась разница в изменении содержания белковых фракций в крови подопытных и контрольных животных. **Выводы.** Обработка баранов-производителей препаратом «Прозерин» в анэстральный сезон способствует улучшению качества их спермы на 4-й и его ухудшению на 7-й день после последней инъекции и может быть рекомендована только при кратковременном использовании животных для получения спермы.

**Ключевые слова:** овцеводство, воспроизводство, регулювання, сперма, інгібітор ацетилхолінестерази, анестральний сезон  
**DOI:** <https://doi.org/10.33694/2617-0787-2020-1-13-59-68>

**Постановка проблеми.** Вівці належать до тварин з сезонністю репродукції і у вівцематок більшості порід весною яєчники гіпофункціональні. На відміну від самок плідники зберігають здатність продукувати активні спермії протягом року. Але сезон року впливає і на самців, що проявляється погіршенням якості їх сперми [1, 2]. Останнє створює труднощі при осіменінні вівцематок, яких піддають штучній стимуляції статевої охоти поза межами природного парувального сезону. Сезонне погіршення якості є також причиною звуження часу можливого отримання сперми для її наступної кріоконсервації. Тому пошук прийомів поліпшення спермопродукції баранів в анестральний сезон є актуальним питанням.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Основна роль у регулюванні процесів утворення та еякуляції сперми належить гормональним та нервовим чинникам, що обумовлює використання препаратів з аналогічною дією для контролювання сперматогенезу. Прозерин належить до нейротропів, які виявляють антихолінестеразну активність. Наявні дані щодо дієвого використання цього препарату при корегування якості сперми у чоловіків [3:с.211], для покращення статевого збудження кнурів [4]. Але даних щодо застосування прозерину на баранів не знайдено, що обумовило інтерес щодо можливості його використання для поліпшення якості сперми плідників в анестральний сезон. Про ймовірність впливу цього препарату свідчить встановлена присутність ферменту ацетилхолінестерази та холінацетилтрансферазної активності в спермі баранів [5].

**Мета статті.** Метою дослідження було визначити вплив застосування прозерину на кількісні та якісні показники сперми баранів-плідників у весняний період.

**Матеріал та методика досліджень.** Дослідження проведено в квітні-червні 2019 року на 6 баранах-плідниках 3–5-річного віку асканійської тонкорунної породи. Тварини були поділені на 2 групи – дослідну (Д) та контрольну (К), по 3 тварини у кожній. Протягом усього дослідження контрольні та дослідні тварини утримувались разом в одному загоні на однаковому раціоні і в однаковий час піддавались однаковим маніпуляціям з отримання сперми та аналізу крові. Дослідних баранів додатково у певні дні піддавали 3-разовій обробці «Прозерином» (0,05 %-ний розчин) у кількості 1 мл/гол./на обробку. Дослідження започатковували 8 квітня, послідовність маніпуляцій наведе-

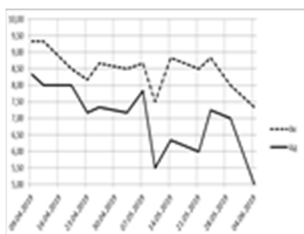
но у таблиці 1. Показниками, за якими визначали вплив препарату, були кількісні та якісні показники нативної сперми, гематологія та біохімічні показники крові. Об'єм, концентрацію та активність сперміїв в еякуляті встановлювали загально прийнятими методами. Абсолютну виживаність (Абс. виж.) сперміїв встановлювали за витримки у скляному флаконі та пайєті. Для цього 0,05 мл нативної сперми вносили у скляний пеніциліновий флакон з 1 мл спеціального розчину.

**Таблиця 1. Послідовність маніпуляцій з тваринами та досліджувані показники у досліді**

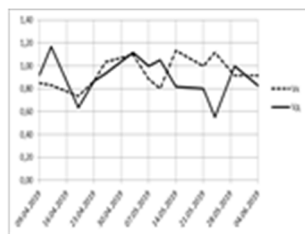
Доба	Маніпуляція	Досліджувані показники
1	- взяття та аналіз крові	гематологія та біохімічні показники
2, 5, 12, 16	- отримання та оцінювання сперми	об'єм еякуляту, активність, концентрація та виживаність сперміїв
19	- отримання та оцінювання сперми, - обробка баранів дослідної групи «Прозерином»	об'єм еякуляту, активність, концентрація та виживаність сперміїв
22	- обробка тварин дослідної групи «Прозерином»	
26	- отримання та оцінювання сперми, - обробка тварин дослідної групи «Прозерином»	об'єм еякуляту, активність, концентрація та виживаність сперміїв
29	- взяття та аналіз крові	гематологія та біохімічні показники
30, 33, 37, 44, 47, 52, 57	- отримання та оцінювання сперми	об'єм еякуляту, активність, концентрація та виживаність сперміїв
63	- взяття та аналіз крові	гематологія та біохімічні показники

Не пізніше 3 хвилин після розбавлення 0,25 мл розчину зі спермою фасували у пайєту (0,25 мл), решту залишали у флаконі. Пайєти герметизували пластмасовими кульками, флакон закривали гумовою кришкою. Флакони та пайєти переносили у термостат і витримували за температури 35-37 °С. Активність сперми визначали через кожну годину протягом 8 годин для зразків у флаконах (Абс. виж. (8)), протягом 6 годин для зразків у пайєтах (Абс. виж. (6)). При перевірці активності сперми, фасованої у пайєти, кінчик із кулькою відкидали, а для тесту відокремлювали 1–1,5 см з кінця пайєти. Залишок пайєти повторно герметизували кулькою. Абсолютну виживаність (у.о.) вираховували відповідно до ГОСТ 20909-4. В крові досліджували вміст гемоглобіну, формених елементів, у сироватці крові – загального білку та білкових фракцій.

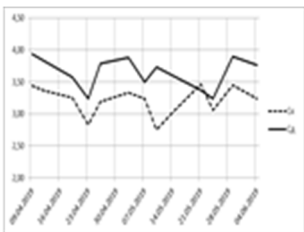
**Результати досліджень.** Динаміку кінетичних та фізіологічних показників нативної сперми дослідних та контрольних тварин протягом дослідження показано рисунками 1–4. Застосування препарату помітно вплинуло на активність сперми (рис. 1), об'єм еякуляту (рис. 2) та кількість рухливих спермій в еякуляті (рис. 4). Слід відмітити, що характер динаміки показника активності нативної сперми у тварин обох груп був схожим, що свідчить про однаковість реагування тварин і обумовленість цього умовами оточення. Разом з тим, у баранів дослідної групи спостережено більш виразне зростання показника активності сперми через 4 доби і більш різке його зниження через 7 днів після останньої ін'єкції «Прозерину». Крім того, у дослідних баранів у порівнянні з контрольними об'єм еякуляту протягом перших 7 днів після закінчення ін'єкцій майже не змінювався, але значно зменшився на 11-у добу і далі. Поновлення об'єму еякуляту у дослідних баранів до рівня контрольних тварин спостережено лише через 26 днів після останньої ін'єкції «Прозерину». Аналогічну тенденцію відмічено і за кількістю рухливих спермій в еякуляті.



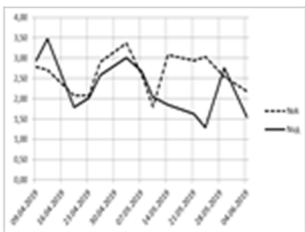
**Рис. 1.** Динаміка активності нативної сперми дослідних (—) та контрольних (- -) баранів



**Рис. 2.** Динаміка середнього об'єму еякуляту



**Рис. 3.** Динаміка концентрації спермій в еякуляті



**Рис. 4.** Динаміка загальної кількості рухливих спермій в еякуляті

Не спостережено вірогідної різниці за показником абсолютної виживаності розбавленої сперми між баранами дослідної та контрольної груп (табл. 2). Отже, хоча показник активності сперми у дослідних тварин у певні дні досліді зазнавав помітного зниження, це не супроводжувалось зменшенням здатності їх спермій до виживання. Напроти, на 11-у добу після останньої ін'єкції «Прозерину» абсолютна виживаність сперми в пайстах у дослідних тварин майже вдвічі перевищувала аналогічний показник контрольних баранів ( $p > 0,05$ ). Можна припустити кращу насиченість цитоплазми спермій дослідних тварин енергетичними речовинами.

**Таблиця 2. Показники абсолютної виживаності (6/8) свіжо отриманої розбавленої сперми баранів у досліді**

Дата вимірювання	Активність нативної сперми, бал		Абс. виж.(6) у пайєті, у.о.		Абс. виж.(8) у флаконі, у.о.	
	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль
19.04	8,0±0,0	8,5±0,9	36,5±3,7	30,4±6,3	52,2±5,8	53,8±3,7
26.04	7,3±0,4	8,7±0,4	31,2±1,8	33,2±5,4	46,7±6,5	48,7±4,2
03.05	7,2±0,7	8,5±0,9	н.в.	н.в.	43,8±3,2	51,4±8,0
07.05	7,8±1,0	8,7±1,0	21,3±3,6	16,8±1,2	46,8±6,1	49,8±6,6
10.05	5,8±1,7	7,5±0,9	24,1±6,8	28,8±11,0	33,5±3,1	40,8±5,2
14.05	6,3±2,2	8,8±0,8	7,3±1,1	4,4±0,2	31,2±1,5	33,1±4,7
29.05	7,0±1,4	8,0±0,0	н.в.	н.в.	39,8±8,1	41,7±0,9

Примітки. 1) н.в. – показник не визначали,

2) визначення вірогідності відмінності показників в межах однієї групи тварин між значеннями різних діб не здійснювали.

Слід зазначити, що у ході досліді спостережено поступове зниження показника виживаності сперми тварин обох груп. Проте, оскільки у різні дні при визначенні виживаності використовували розчини різного складу, стверджувати про негативний вплив на виживаність спермій саме сезону не можна.

Не виявлено вірогідних відмінностей між тваринами дослідної та контрольної груп за кількісним вмістом в крові гемоглобіну, клітинних елементів, загального білку та білкових фракцій. Протягом дослідного періоду динаміка коливань вмісту гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів та загального білку у тварин обох груп була майже однаковою, що свідчить про сезонну обумовленість зміни цих показників. В той же час, виявлено певну відмінність динаміки вмісту білкових фракцій в сироватці крові між групами. Так, обробка «Прозерином» спричиняла більш помітне зменшення вмісту альбумінів (рис. 5) та  $\alpha$ -глобулінів (рис. 6) і збільшення  $\beta$ -глобулінів

(рис. 7) через 3 доби після останньої ін'єкції «Прозерину» у порівнянні з зміною показників контрольних тварин.

На 37-у добу після закінчення обробок вміст  $\gamma$ -глобулінів в крові дослідних тварин зростає, в той час як у контрольних тварин майже не змінювався (рис. 8). Тож, можна стверджувати, що саме застосування нейротропної речовини стало причиною зазначених відмінностей коливань вмісту білкових фракцій між дослідними та контрольними тваринами.

Таким чином, обробка баранів нейротропною речовиною за використаною схемою вела до короточасного поліпшення показників спермопродукції та їх наступного компенсаторного погіршення. Позитивний віддалений ефект препарату проявився поліпшенням виживаності сперми через місяць після початку обробки. Така особливість показує, що прозерин стимулював виділення вже утворених сперміїв, але загальмовував дозрівання додаткових. Таке гальмування сприяло утворенню більш підготовлених сперміїв, які виявили покращену здатність до виживання.

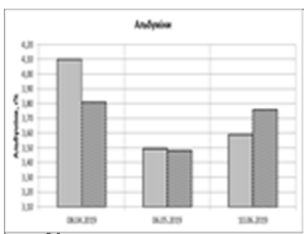


Рис. 5 – Динаміка вмісту альбумінів в сироватці крові дослідних (■) та контрольних (▨) баранів

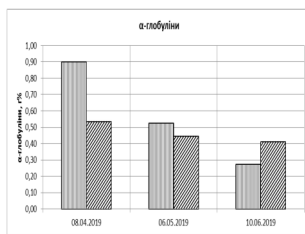


Рис. 6 – Динаміка вмісту  $\alpha$ -глобулінів

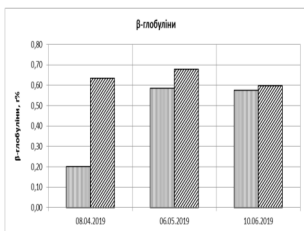


Рис. 7 – Динаміка вмісту  $\beta$ -глобулінів

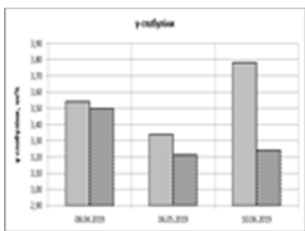


Рис. 8 – Динаміка вмісту  $\gamma$ -глобулінів



Шляхом реалізації стимулюючої дії прозерину слід визнати збільшення вмісту ацетилхоліну, здатність якого посилювати міграцію сперміїв у статевих шляхах показана на мишах [6]. Разом з тим, надмірна дія холінергічного нейротрансмітеру здатна пригнічити сперматогенез. Так, у досліді на щурах щоденне згодовування препарату, який інгібує ацетилхоліністеразу, вело до зниження кількості сперміїв, погіршення їх виживаності, збільшення частки нерухоливих клітин. Більш детальний аналіз виявив гальмування сперматогенезу, зменшення кількості клітин Лейдігу [7]. Оскільки в нашому досліді прозерин вводили з інтервалами у кілька діб, можна припустити, що гальмування сперматогенезу було незначним. Збільшення показників сперми дослідних тварин до рівня контрольних через 26 діб після останньої ін'єкції свідчить про зворотність гальмуючої дії прозерину.

За загальними результатами досліду зроблено висновок, що триразову обробку баранів-плідників речовиною нейротропної дії «Прозерин» у анестральний сезон доцільно здійснювати лише при короткочасному використанні тварин як донорів сперми, наприклад під час нетривалої (до 7 діб) кампанії зі штучного осіменіння вівцят.

**Висновки.** 1. Триразова обробка баранів-плідників препаратом «Прозерин» з інтервалом у 3-4 доби у анестральний період сприяє поліпшенню якості їх сперми на 4-у добу та її погіршенню на 7-у добу після останньої ін'єкції.

2. Триразова обробка баранів-плідників препаратом «Прозерин» у анестральний період доцільна лише за короткочасного (не більше 7 діб) використання тварин для отримання сперми.

### Список використаної літератури

1. Давиденко, В. М., Шинкаренко І. С. та Ігнатенко О. І. Спермопродукція баранів асканійської тонкорунної породи залежно від сезонних і метеорологічних факторів. *Вівчарство*. 1979. № 18. С. 94–100.

2. Moghaddam, G.H., M.M. Pourseif and S.A. Rafat. 2012. Seasonal variation in semen quantity and quality traits of iranian crossbred rams. *Slovak J. Anim. Sci.*, 45(3):67–75.

3. Горпинченко, И. И., Стусь В. П., Малышкин Д. И., Н. Ю. Полион. Мужское бесплодие: этиология, патогенез, классификация, диагностика и методы лечения : монография. Днепр : ООО «Акцент ПП», 2016. 344 с. ISBN 978-966-921-080-7.

4. Левин, К. Л. Влияние прозерина и карбохолина на воспроизводительную функцию хряков. *Интенсификация животноводства и кормопроизводства : сб. науч. трудов*. Москва, 1975. № 3. 118–120.

5. Stewart, T.A. and I.T. Forrester. 1978. Acetylcholinesterase and choline acetyltransferase in ram spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 19(2):271–279. <https://doi.org/10.1095/biolreprod19.2.271>

6. Sliwa, L. 1995. Chemotaction of mouse spermatozoa induced by certain hormones. *Arch. Androl.* 35:105–110.

7. Babazadeh, M. and G. Najafi. 2017. Effect of chlorpyrifos on sperm characteristics and testicular tissue changes in adult male rats. *Veterinary Research Forum: an International Quarterly Journal*, 8(4):319-326. PMID: 29326791

## References

1. Davydenko, V. M., Shynkarenko, I. S., & Ihnatenko, O.I. (1979). Spermoproduktsiia baraniv askaniiskoi tonkorunnoi porody zalezno vid sezonnykh i meteorologichnykh faktoriv [Sperm production of Ascanian Fine-Fleeced sheep depending on seasonal and meteorological factors]. M.O. Mokushenko (Eds.), *Vivcharstvo – Sheep Breeding*. (Issue 18), (pp. 94–100). Kyiv: “Urozhai” [in Ukrainian].

2. Moghaddam, G.H., M.M. Pourseif and S.A. Rafat. 2012. Seasonal variation in semen quantity and quality traits of iranian crossbred rams. *Slovak J. Anim. Sci.*, 45(3):67–75.

3. Gorpichenko, I. I., Stus', V. P., Malyshkin, D. I., & Polion N. Yu. (2016). *Muzhskoe besplodie: etiologiya, patogenez, klassifikatsiya, diagnostika i metody lecheniya [Male infertility: etiology, pathogenesis, classification, diagnosis and treatment methods]*. Dnepr: OOO «Aktsent PP» [in Russian].

4. Levin, K. L. (1975). Vliyanie prozerina i karbocholina na vosproizvoditel'nyuyu funktsiyu khryakov [The effect of proserin and carbocholine on the boars reproductive function]. *Intensifikatsiya zhivotnovodstva i kormoproizvodstva - Intensification of livestock and feed production*, (Number 3), (pp. 118-120). Moscow [in Russian].

5. Stewart, T.A. and I.T. Forrester. 1978. Acetylcholinesterase and choline acetyltransferase in ram spermatozoa. *Biol. Reprod.*, 19(2):271–279. <https://doi.org/10.1095/biolreprod19.2.271>

6. Sliwa, L. 1995. Chemotaction of mouse spermatozoa induced by certain hormones. *Arch. Androl.* 35:105–110.

7. Babazadeh, M. and G. Najafi. 2017. Effect of chlorpyrifos on sperm characteristics and testicular tissue changes in adult male rats. *Veterinary Research Forum: an International Quarterly Journal*, 8(4):319-326. PMID: 29326791