

## **ВПЛИВ ФОСФОРУ, КАЛІЮ ТА СІРКИ, ВВЕДЕНИХ В СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ РОЗБАВЛЕННЯ СПЕРМИ КНУРІВ, НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ СПЕРМІЇВ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ В НИХ**

*С. Б. Корнят, М. М. Шаран, О. Б. Андрушко, А. Р. Корбецький*

Інститут біології тварин УААН

*У статті представлені дані про вплив ряду неорганічних сполук, які містять калій, фосфор і сірку, введених в середовище для розбавлення і зберігання сперми кнурів поза їх організмом на активність спермій протягом зберігання, рівень аглютинації спермій після розбавлення в дослідних варіантах середовищ, вміст глюкози в різних варіантах середовищ та реакцію середовища. Показано позитивний вплив наявності в середовищі для розбавлення і зберігання сперми кнурів поза їх організмом одночасно сполук калію, фосфору і сірки. При найкращому поєднанні складників в середовищі повільніше відбуваються обмінні процеси в сперміях, внаслідок чого менше витрачається глюкоза наявна в середовищі на енергетичні процеси спермій, а отже повільніше відбувається закислення середовища, що в свою чергу має позитивний вплив на збереження життєздатності спермій протягом зберігання.*

На даний час в Україні використовуються різні середовища для розбавлення і зберігання сперми кнурів, як вітчизняного, так і закордонного виробництва, з подальшим її використанням для штучного осіменіння свиноматок. Відомі середовища для розбавлення і зберігання сперми кнурів закордонного виробництва — BTS, IVT, SCHONON, ZORLESCO, ANDROHEP [1, 2]. В Україні із закордонних застосовується переважно середовище BTS (польського, німецького або голландського виробництва) розраховане на 3-, 7- чи 10-денний термін зберігання сперми кнурів, а з вітчизняних середовищ — «Біоконсан», ГХЦ-У Харківської науково-виробничої комерційної фірми «Ембріон», ГХЦС чи ГХЦ, виготовлені безпосередньо на станціях штучного осіменіння свиней згідно Інструкції зі штучного осіменіння свиней. Проте це потребує додаткових затрат праці і обладнання та ускладнюється тим, що в Україні продаються складники для виготовлення середовищ від багатьох виробників (здебільшого імпортерів), та партії цих реактивів дуже відрізняються між собою за дією на сперму. Недоліками всіх існуючих розбавників є відмінності в їхній дії на спермії кнурів різних порід, віку та відносно висока їх вартість.

З середовищ вітчизняного виробництва в Україні найбільш широко реалізовується та застосовується для розбавлення сперми кнурів, призначеної для штучного осіменіння свиноматок, готова суха заготовка середовища «Біоконсан». Але з певних причин значна частина фахівців відмовилася від нього і почала переходити спочатку на середовища польського виробництва, а згодом і німецького та голландського, внаслідок їх більшої надійності в умовах виробництва. Проте їх ціна спонукає до розроблення власного ефективного середовища для розбавлення і короткотривалого (до 3-х днів) зберігання сперми кнурів поза організмом.

Всі середовища для розбавлення сперми кнурів, які використовуються на сьогоднішній день у світі містять в своєму складі глюкозу, трьохзаміщений цитрат натрію і натрій двовуглекислий. У складі всіх середовищ, крім IVT та глюкозо-сольового розбавника міститься дивонатрієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти. Також у склад різних середовищ входять такі сполуки, як хлорид калію, трис, NEPES, лимонна кислота, цистеїн, сульфат амонію та бичачий сироватковий альбумін [1, 2]. Призначенням основних складників, які застосовуються у більшості середовищ для зберігання охолодженої сперми кнурів у рідкому стані поза організмом є наступне:

— глюкоза, яка є енергетичним матеріалом для сперматозоїдів і запобігає втраті ними електричного заряду, а отже їх аглютинації;

— цитрат, бікарбонат натрію, чи хлорид калію, які є природними буферами, що перешкоджають отруєнню сперміїв кислими продуктами їхнього власного розпаду, зменшують проникність оболонки сперміїв, послаблюють дію антитіл у статевих шляхах свиноматок на сперматозоїди, виводять з сироватки сперми кальцій, вільні іони якого є шкідливими для сперматозоїдів [3];

— трилон Б (хелатон-3 або двонатрієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти), запропонований у 1965 році М. Т. Плішко в Інституті біології тварин [4], щодо даного часу застосовується в більшості синтетичних середовищ для зберігання охолодженої сперми кнурів у рідкому стані, його дія полягає у захопленні дивалентних іонів металів, зокрема кальцію, й обмеженні його проникнення через плазматичну мембрану [5], він запобігає початку капацитації та змінам акросоми сперміїв в процесі їхнього зберігання;

— речовини, які містять сульфгідрильні групи, допомагають стабілізувати мембрану сперміїв при розбавленні, зберіганні й охолодженні і в свою чергу підвищують їхню стійкість до коливань температури, та запобігають капацитації [1];

— антиоксиданти, продовжують життя сперміїв із збереженням запліднювальної здатності на вищому рівні [6];

— фосфоровмісні сполуки, які вводяться в середовища для розбавлення і зберігання сперми кнурів поза їх організмом з подальшим використанням для штучного осіменіння свиноматок, є важливими для підтримання рівня аденозинофосфорних кислот у сперміях (АТФ, АДФ, АМФ) і забезпечення процесів життєдіяльності в сперміях при зберіганні, мають важливе значення як для запобігання передчасній капацитації сперміїв при зберіганні та транспортуванні, так і для створення сприятливого середовища в матці свиноматок при їхньому осіменінні [7];

— протимікробні препарати (переважно антибіотики) широкого спектру дії, затримують розвиток мікроорганізмів у спермі, що можуть попасти в неї при взятті, фасуванні і зберіганні.

У сперміях тварин та людини активно відбуваються як метаболічні так і синтетичні процеси, які між собою тісно пов'язані. Їхній напрямок та інтенсивність безпосередньо залежать від вмісту поживних речовин в міжклітинному просторі (тобто в плазмі сперми або середовищі для розбавлення сперми).

У сперміях тварин активно відбувається метаболізм та катаболізм фосфоровмісних енергетичних сполук [8], зокрема встановлено важливе значення кальцію та фосфору для повноцінної капацитації сперміїв [9]. Капацитація сперміїв кнура тісно пов'язана з обміном фосфору та білків [10]. Обмін іонів кальцію і магнію, фосфору та протеїнів плазматичних мембран сперміїв кнурів також між собою пов'язані [11].

Фосфоровмісні білки та іони кальцію мають важливе значення для проникнення сперміїв кнура в ооцити, дозрілі *in vitro* [12]. Бікарбонати відіграють важливу роль в обміні ліпідів та фосфоліпідного бішару плазматичної мембрани сперміїв [13].

Фосфатидилінозитол виявлений у великій кількості в сім'яній рідині бугаїв і крелів [14], і його синтез може навіть призводити до зменшення вмісту в ній інозитулу, що використовується для його синтезу. В еякульованих сперміях кнурів активно відбувається метаболізм АТФ, АМФ та глюкози [15]. При використанні  $[8-^{14}\text{C}]$ АТФ та  $[8-^{14}\text{C}]$ АДФ для визначення обміну вуглецю між фосфоровмісними сполуками та інтенсивності обміну цих сполук у сперміях кнура та інших тварин мічені гліцерофосфорилхолін та гліцерофосфорилінозитол було виявлено в сім'яній плазмі сперми плідників, а мічені АТФ, АДФ, АМФ, ГТФ, ГДФ, NAD, фруктозо-1,6-дифосфат і глюкозо-6-фосфат були виявлені в препаратах приготованих з сперматозоїдів [16], що вказує на інтенсивний взаємний обмін фосфором між сполуками плазми сперми та внутрішнім середовищем сперміїв, тобто сталий інтенсивний синтез, розпад та ресинтез вказаних фосфоровмісних сполук.

У дослідженнях на спермі морських свинок було встановлено, що присутність калію в середовищі є необхідною для того, щоб відбулося запліднення самок цих тварин [17]. Встановлено постійний обмін калію і натрію в сперміях кнура [18, 19]. Додавання іонів калію є необхідними для життя клітин і підтримання життєздатності сперматозоїдів кнура [20].

При вивченні активностей лужної та кислої фосфатази в спермі кнурів було встановлено, що вони залежать від вмісту в середовищі трилону, гідрокарбонату натрію, рН, температури, цинку, кадмію, амінокислот (аргінін, лейцин, фенілаланін), сірки, калію, носіїв сульфгідрильних груп та хлориду магнію [18].

Тому наші дослідження полягали в зміні відносного вмісту деяких складників в складі існуючих середовищ (ГХЦС, BTS) та введенні нових компонентів — сірковмісних, фосфоровмісних, енергетичних, азотовмісних та буферних сполук для досягнення стабільніших умов середовища при зберіганні сперми для кращого збереження її запліднюючої здатності поза організмом кнурів.

**Матеріали і методи.** Для лабораторних досліджень використовувалася сперма, взята від 6 кнурів віком 10–20 місяців породи велика біла, ландрас і дюрк у ЛНВЦ «Західплемресурси» в селі Гряда Жовківського району Львівської області. Сперму брали в кнурів мануальним способом після їхнього привчання до садки на дерев'яне чучало, розроблене в Полтавському Інституті свинарства ім. О. В. Квасницького. Розбавлену сперму оцінювали за активністю сперміїв, змінами рН розбавленої сперми протягом зберігання та вмістом глюкози.

За контроль було взято глюкозо-хелато-цитратно-сульфатне середовище (ГХЦС), яке містило 40 г глюкози, 2,6 г хелатону, 0,5 г цитрату натрію тризаміщеного, 3,8 г натрію двовуглекислого, 1,8 г сульфату амонію на 1 л дистильованої води. До вказаного середовища додавали антибіотики згідно з «Інструкцією з штучного осіменіння свиней» [21].

Спільним між всіма досліджуваними зразками середовищ для розбавлення і зберігання сперми кнурів була наявність в їхньому складі глюкози, хелатону-3, цитрату натрію тризаміщеного, натрію двовуглекислого та антибіотиків. Це було основою для випробовування дії на сперму інших речовин, що вводилися до розбавника. Завданням даної роботи було вивчення впливу різних сірко-, фосфор- та калієвмісних сполук введених до середовища для розбавлення і зберігання сперми кнурів разом чи окремо на тривалість збереження сперміями життєздатності.

Після цього було складено 13 варіантів дослідних розбавників:

1. основа з додаванням однозаміщеного фосфату калію;
2. основа з додаванням двохзаміщеного фосфату калію;
3. основа з додаванням сульфату калію;
4. основа з додаванням фосфату калію;
5. основа з додаванням двохзаміщеного фосфату калію та сульфату натрію;
6. основа з додаванням двохзаміщеного фосфату калію і однозаміщеного фосфату калію;
7. основа з додаванням двохзаміщеного фосфату натрію та однозаміщеного фосфату калію;
8. основа з додаванням двохзаміщеного фосфату натрію;
9. основа з додаванням двохзаміщеного фосфату натрію та сульфату калію;
10. основа з додаванням однозаміщеного фосфату калію та сульфату калію;
11. основа з додаванням однозаміщеного фосфату калію та двохзаміщеного фосфату калію;
12. основа з додаванням двохзаміщеного фосфату калію та сульфату калію;
13. основа з додаванням однозаміщеного фосфату калію та сульфату калію.

Дослідні середовища з однаковими складниками відрізнялися між собою за масовою часткою в них окремих компонентів. Осмотичний тиск та рН ГХЦС і дослідних середовищ відрізнялися між собою менше 15 %.

Отримана сперма розбавлялася в ГХЦС середовищі контроль, дослідні середовища з добавками ряду сполук, які, на нашу думку, мали б посилити спермозберігаючу дію розбавника (фосфоровмісні, азотовмісні та сірковмісні сполуки). Про рівень життєздатності сперміїв робили висновок за їхньою активністю, яку визначали через кожні 24 год до їх повної загибелі. Розбавлена сперма зберігалася в термоізольованих ящиках при кімнатній температурі.

Кількість глюкози в розбавленій спермі визначали за кольоровою реакцією з ортотолуїдином [22]. Активність сперми визначали при температурі 40 °С з допомогою інвертованого мікроскопа Биолам П-1 («Ломо», Росія) при збільшенні в 150 разів в кількох полях зору у 2–3 краплинах сперми, які наносили на предметне скельце. Реакцію середовища визначали з допомогою рН-метра.

**Результати та обговорення.** Після проведення досліджень з усіма описаними варіантами дослідних середовищ було відібрано шість, які виявилися найкращими за впливом на життєздатність спермій.

Відомо, що глюкоза є основним і найлегше засвоюваним енергетичним субстратом для спермій, а також тому її рівень в середовищі при зберіганні сперми вказує на активність метаболічних процесів, які в них відбуваються в процесі зберігання.

Таблиця 1

**Вміст глюкози в розбавленій спермі кнурів залежно від складу середовища і терміну зберігання, (M±m, мг%, n=3)**

Розбавник	1 день	2 день	3 день	4 день
ГХЦС	205,67±12,60	203,0±21,79	199,67±35,31	164,67±22,70
Д1	272,67±11,05*	268,67±28,51	192,67±5,81	166,67±14,25
Д2	280,0±13,23*	260,0±13,23	225,0±8,66	209,67±8,95
Д3	277,67±28,26*	260,33±21,67	237,67±22,26	186,67±20,41
Д11	332,67±16,51*	317,67±16,51*	258,0±19,65	205,0±13,23
Д12	415,0±13,23*	357,67±17,48*	300,0±18,0	242,67±13,86*
Д13	412,33±12,99*	375,0±15,0*	290,0±21,79	240,0±8,66*

*Примітка:* в цій та наступній таблицях \* — позначені вірогідні різниці досліджуваних показників у дослідних групах впорівняні з контрольною; \* — P<0,05; \*\* — P<0,01; \*\*\* — P<0,001.

Як видно з таблиці 1, у всіх дослідних середовищах виявлено більший вміст глюкози в перший день зберігання сперми, впорівняні до контролю, що вказує на сповільнення даними середовищами активності перебігу метаболічних процесів в сперміях порівняно з глюкозо-хелатно-цитратно-сульфатним середовищем. На другий день зберігання рівень глюкози був вірогідно вищим в дослідних зразках середовищ 11, 12 і 13, а на четвертий день зберігання в 12 і 13 дослідних середовищах порівняно до сперми, розбавленої глюкозо-хелатно-цитратно-сульфатним середовищем. Даний факт вказує на низький рівень метаболізму в сперміях, що зберігаються в даних середовищах, а отже і про довший час зберігання ними запліднюючої здатності. Звідси, можна зробити висновок, що додавання до середовища фосфорновмісних та сірчановмісних солей К (11, 12, 13) призводить до зниження рівня метаболізму глюкози, що забезпечує більш тривале зберігання сперми із збереженням повноцінної життєздатності спермій.

У таблиці 2 наведені дані про активність спермій у дослідних і контрольному розбавниках, рівень аглютинації та реакцію середовища в процесі зберігання розбавленої сперми. Активність розбавленої сперми на першу та другу добу зберігання була нижчою в усіх дослідних варіантах середовища порівняно з контролем, що вказує на швидше введення ними спермій кнура в стан, близький до анабіозу. На третій день зберігання спермії в дослідних середовищах відзначалися більшою активністю, хоч вірогідних різниць не виявлено. З даної таблиці видно, що вірогідні різниці одержані тільки в рівнях рН у розбавленій спермі на третій день зберігання. В дослідних середовищах Д2, Д3, Д11, Д12 і Д13 реакція середовища була менш кислою, ніж у дослідному середовищі, що свідчить про більшу їх буферну ємність, порівняно з контрольним середовищем. Найвища відмінність в реакції середовища виявлено в зразку Д12 порівняно до контролю.

Таблиця 2

**Активність сперми, розбавленої в різних розбавниках, її рН та рівень аглютинації (M±m, n=3)**

	Показники	1 день	2 день	3 день	4 день
ГХЦС	Активність, %	75,0±2,89	68,3±1,67	50,0±15,0	мертва

	Аглютинація, %	0	0	30	-
	pH	6,88±0,07	6,88±0,16	6,45±0,08	5,53±0,09
Д1	Активність, %	66,7±3,33	65,0±5,0	66,7±3,3	60,0±5,0
	Аглютинація, %	0	0	20	30,0
	pH	6,60±0,06	6,47±0,12	6,62±0,04	6,23±0,22
Д2	Активність, %	68,3±4,41	61,7±8,33	56,7±13,3	57,5±7,5
	Аглютинація, %	0	0	20	20
	pH	7,0±0,06	6,9±0,11	6,98±4,41*	6,35±0,20
Д3	Активність, %	65,0±7,64	65,0±5,0	60,0±5,0	67,5±2,5
	Аглютинація, %	0	0	20	20
	pH	6,77±0,06	6,85±0,09	6,80±0,06*	6,58±0,24
Д11	Активність, %	68,3±1,67	63,3±6,67	63,3±6,67	60,0±5,0
	Аглютинація, %	0	0	20	30
	pH	6,75±0,13	6,97±0,09	6,93±0,07*	6,2±0,30
Д12	Активність, %	66,7±3,33	65,0±5,0	50,0±20,0	47,5±7,5
	Аглютинація, %	0	0	40	50
	pH	6,88±0,07	7,10±0,10	7,05±0,03**	6,03±0,14
Д13	Активність, %	70,0±5,0	65,0±5,0	53,3±16,6	62,5±2,5
	Аглютинація, %	0	0	40	20
	pH	6,70±0,04	7,02±0,02	6,83±0,04*	6,35±0,33

Отже, варіанти дослідних середовищ 12 та 13 після перевірки при штучному осіменінні свиноматок у виробничих умовах можуть стати основою для отримання дешевого та ефективного середовища для короткотривалого зберігання розбавленої сперми кнурів поза їхнім організмом з використанням її в подальшому для штучного осіменіння свиноматок.

## В И С Н О В К И

1. Вміст глюкози в розбавленій спермі протягом зберігання залежить від складу середовища і найвищим її рівень є при використанні середовищ, після розбавлення якими спермі показують найменшу активність в перші два дні зберігання.

2. У середовищах з низьким рівнем метаболізму глюкози повільніше відбувається закиснення, що позитивно впливає на життєздатність сперміїв і тривалість зберігання сперми.

## ВЛИЯНИЕ ФОСФОРА, КАЛИЯ И СЕРЫ, ВВЕДЕННЫХ В СОСТАВ СРЕДЫ ДЛЯ РАЗБАВЛЕНИЯ СЕМЕНИ ХРЯКОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ СПЕРМИЕВ И ПРОЦЕССЫ МЕТАБОЛИЗМА В НИХ

*С. Б. Корнят, М. М. Шаран, О. Б. Андрушко, А. Р. Корбецкий*

## А Н Н О Т А Ц И Я

В статье приведены данные о влиянии ряда неорганических соединений, которые содержат калий, фосфор и серу, введенных в среду для разбавления и хранения семени хряков вне их организма на активность спермиев на протяжении хранения, уровень агглютинации спермиев после разбавления семени в исследуемых вариантах сред, уровень глюкозы в различных вариантах исследуемых сред после разбавления семени и реакцию среды. Показано положительное влияние наличия в среде для разбавления и хранения семени хряков вне их организма одновременно соединений калия, фосфора и серы. При наилучшем сочетании указанных соединений в среде более медленно происходят обменные процессы в спермиях после разбавления семени, вследствие чего меньше расходуется глюкоза среды на энергетические надобности спермиев, а потому более медленно происходит закисление среды, что в свою очередь имеет положительное влияние на сохранение жизнеспособности спермиев при их хранении.

# THE IMPACT OF PHOSPHORUS, POTASSIUM AND SULFUR ADDED TO BOAR SPERM DILUENT UPON LONGEVITY AND METABOLISM OF THE SPERMATOZOA

*S. Kornyat, M. Sharan, O. Andrushko, A. Korbetskyy*

## S U M M A R Y

In the article are given the experimental data on influence of some nonorganic compounds, such as, phosphorus, potassium and sulfur added to boar sperm diluent upon motility, agglutination rate, level of glucose and pH after sperm dilution and during its storage in vitro. Is shown the positive effect of addition mentioned compounds to the boar sperm diluent on in vitro survival time. With the optimized component parts of boar sperm diluent the processes of metabolism in spermatozoa are taking place more slowly, as a result less glucose is used from the medium on energy processes in spermatozoa, so the processes of oxidation are slowing down too, therefore has positive influence upon maintaining of sperm viability during storage.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Johnson L. A.* Storage of boar semen. [Text] / Johnson L. A., Weitze K. F., Fiser P., Maxwell W. M. C. // *Animal Reproduction Science*. — 2000. — v.62. — P. 143–172.
2. *Gadella B. M.* The capacitations agent bicarbonate induces protein kinase A-dependent change in phospholipids transbilayer behaviour in the sperm plasma membrane. [Text] / Gadella B. M., Harrison R. A. P. // *Development*. — 2000. — V. 127. — P. 2407–2420.
3. *Плишко Н. Т.* Способ продления жизни и оплодотворяющей способности половых клеток хряка. [Текст] / Плишко Н. Т. // *Свиноводство*. — 1965. — № 6. — С. 37–41.
4. *Watson P. F.* Artificial insemination and the preservation of semen. [Text]. / Watson P. F. // In: Lamming, G.(Ed.), *Marshall's Physiology of Reproduction 4<sup>th</sup> edn*. V. 2. — Churchill Livingstone : Edinburg, 1990. — P. 747–869.
5. *Funahashi H.* Select antioxidants improve the function of extender boar semen stored at 10 degrees C. [Text] / Funahashi H., Sano T. // *Theriogenology*. — 2005. — V. 63 (6).— P. 1605–1616.
6. *Плишко Н.* Технологии и препараты для повышения воспроизводства животных [Текст] / Плишко Н. — Бровары, 2005. — 112 с.
7. *Wang C.* Association of [<sup>14</sup>C] Phosphatidylcholine with Rat Epididymal Sperm and Its Conversion to [<sup>14</sup>C] Glycerolphosphorycholine [Text] / Wang C. Yu, Gary Killian, D. A. Chapman. // *Sperm and Principal Cells Biology of Reproduction*. — 1981. — v.25. — P. 969–976.
8. *Dube C.* The Importance of Calcium in the Appearance of p32, a Boar Sperm Tyrosine Phosphoprotein, During In Vitro Capacitation. [Text] / Dube C., Tardif S., Leclerc P., Bailey J. L. // *Journal of Andrology*. — 2003. — Vol. 24 — No. 5. — P. 727–733.
9. *Tardif S.* Capacitation is Associated with Tyrosine Phosphorylation and Tyrosine Kinase-Like Activity of Pig Sperm Proteins. [Text] / Tardif S., Dube C., Chevalier S., J. L. Bailey. // *Biology of Reproduction*. — 2001. — v.65. — P.784–792.
10. *Ashraf M.* Characterization of (Ca<sup>2+</sup> + Mg<sup>2+</sup>) Adenosine Triphosphatase Activity and Calcium Transport in Boar Sperm Plasma Membrane Vesicles and Their Relation to Phosphorylation of Plasma Membrane Proteins. [Text] / Ashraf M., R. N. Peterson, L. D. Russell // *Biology of Reproduction*. — 1984. — v.31. — P.1061–1071.
11. *Mori T.* Effect of Casein Phospho Peptides and Ca<sup>2+</sup> on Penetration of Boar Spermatozoa into Pig Oocytes Matured In Vitro. [Text]. / Mori T., M. Hirayama, K. Suzuki, H. Shimizu and T. Nagai. // *Biology of Reproduction*. — 1996. — v.55. — P.364–369.
12. *Gadella B. M.* The capacitating agent bicarbonate induces protein kinase A-dependent changes in phospholipid transbilayer behavior in the sperm plasma membrane. [Text] / Gadella B. M., R. A. P. Harrison. // *Development*. — 2000. — v.127. — P.2407–2420.

13. *Voglmayr J. K.* The distribution of free *myo*-inositol in fluids, spermatozoa and tissues of the bull genital tract and observations on its uptake by the rabbit epididymis. [Text] / *Voglmayr J. K., Amann R. P.* // *Biol. Reprod.* — 1973. — v.8. — P.504–513.
14. *Garbers D. L.* The Effects of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase Inhibitors on Ejaculated Porcine Spermatozoan Metabolism. [Text] / *Garbers D. L., N. L. First, S. K. Gorman, and H. A. Lardy.* // *Biology of Reproduction.* — 1973. — v.8. — P.599–606.
15. *Brooks D. E.* Acid-Soluble Phosphorus Compounds in Mammalian Semen. [Text] / *Brooks D. E.* // *Biochem. J.* — 1970. — v.118. — P.851–857.
16. *Rogers B. J.* Fertilization by Guinea Pig Spermatozoa Requires Potassium Ions. [Text] / *Rogers B. J., M. Ueno and R. Yanagimachi.* // *Biology of Reproduction.* — 1981. — v.25. — P.639–648.
17. *Soucek D. A.* Some Properties of Acid and Alkaline Phosphates from Boar Sperm Plasma Membranes. [Text] / *Soucek D. A. and J. C. Vary* // *Biology of Reproduction.* — 1984. — v.31. — P.687–693.
18. *Zimmerman K. J.* Movements of Sodium and Potassium into Epididymal Boar Spermatozoa. [Text] / *Zimmerman K. J., B. G. Crabo, R. Moore, S. Weissberg, F. C. Deibel and E. F. Graham* // *Biology of Reproduction.* — 1979. — v.21. — P.173–179.
19. *Harrison R. A. P.* Effect of ionic strength, serum albumin and other macromolecules on the maintenance of motility and the surface of mammalian spermatozoa in a simple medium. [Text] / *Harrison, R. A. P., Dott H. M. and Foster G. C.* // *J. Reprod. Fert.* — 1978. — v.52. — P.65–73.
20. *Інструкція із штучного осіменіння свиней* [Текст] : Відповідальний за випуск *Ю. Ф. Мельник.* — К. : Аграрна наука, 2003. — 56 с. — 3000 пр.
21. *Головацький І. Д.* Обмін вуглеводів у сільськогосподарських тварин. [Текст]. — Київ, 1961. — с. 27.