



УДК 636.27.082.453.5:591.463.1

## БІОЛОГІЧНА ЯКІСТЬ ГЕНОФОНДНОЇ СПЕРМОПРОДУКЦІЇ ЧИСТОПОРОДНИХ ТА ПОМІСНИХ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ СИМЕНТАЛЬСЬКОЇ ПОРОДИ ПІСЛЯ ТРИВАЛОГО КРІОЗБЕРІГАННЯ

Савельєва М. С., н.с.  
Інститут тваринництва НААН

*У статті наведено результати досліджень показників біологічної якості генофондної сперми бугаїв симентальської породи після тривалого криозберігання. Установлено відмінності за деякими якісними показниками сперми, що зберігається у криобанку 26-30 років, залежно від чинника породності плідника. Зокрема встановлено більш високий рівень рухливості, виживаності та інших показників у спермопродукції, заготовленої від помісних бугаїв-плідників симентальської х голштинської; симентальської х айрширської; симентальської х голштинської х айрширської, порівняно з чистопородними тваринами.*

**Ключові слова:** бугаї, глибокозаморожена сперма, деконсервація, рухливість, виживаність.

Завдяки запровадженню методу криоконсервування глибокозамороженої сперми бугаїв, відкритого Смірновим І. В., Міловановим В. К., Соколовською І. І. [1], селекціонери мають зараз багатий генетичний матеріал у формі накопичених за багаторічний період породотворення мільйонів доз сперми від племінних плідників [2]. Доведено що деконсервована сперма після 10 років криозберігання має високі показники рухливості, виживаності та запліднювальної здатності [3, 4]. Згідно з даними літературних джерел [5, 6, 7, 8] існує думка щодо можливості необмеженого строку зберігання спермопродукції бугаїв у зрідженому азоті без істотного зниження якісних характеристик за дотримання умов її зберігання.

Сперма сільськогосподарських тварин, яка зберігає повноцінність без суттєвого зменшення її біологічних показників протягом 25 і більше років, набуває вагомого значення при вирішенні питань щодо збереження зникаючих та рідких порід сільськогосподарських тварин [5, 9]. Усе це спонукає проводити періодичну перевірку основних характеристик значної кількості біологічного матеріалу, що зберігається у криобанках та може направлятися на пункти штучного осіменіння [10].

В Інституті тваринництва НААН у рамках програми ДНТП "Збереження генофонду сільськогосподарських тварин" протягом кількох десятиріч зберігається сперма від видатних чистопородних та помісних бугаїв-плідників симентальської породи. Ці бугаї використовувались на певних етапах формування масивів поліпшеного симентальського скота української селекції та при створенні української червоно-рябої молочної породи.

Як свідчать матеріали зоотехнічного обліку, середня молочна продуктивність матерів генофондних бугаїв-плідників за найвищу лактацію становить 8904 кг, при вмісту жиру 3,85 %, 343 кг молочного жиру. Середня продуктивність матерів батьків цих плідників становить – 8296 кг, 4,26%, 353 кг, відповідно.

Метою досліджень було порівняльне визначення біологічної якості спермопродукції довготривалого строку зберігання залежно від породності симентальських бугаїв-плідників.



Для з'ясування даного питання, було проаналізовано якість спермопродукції бугаїв-плідників, яка зберігається в кріобанку Інституту тваринництва НААН 26–30 років. Проведено моніторинг спермопродукції 9 бугаїв - плідників симентальської породи, у тому числі – 3 чистопородних та 6 помісних. Здійснено визначення основних біологічних показників сперми помісних плідників, отримане шляхом схрещування симентальської х голштинської; симентальської х айрширської; симентальської х голштинської х айрширської порід та порівняно з відповідними показниками сперми, заготовленої від чистопородних бугаїв симентальської породи.

**Матеріали і методи досліджень.** Спермопродукція була заготовлена за Харківською технологією асептичного отримання та кріоконсервації сперми бугаїв і зберігалась у біосховищах ХБ-0,5 у середовищі зрідженого азоту. Біологічну якість спермопродукції піддослідних плідників перевірено за показниками рухливості, виживаності й показником абсолютної виживаності та методом експрес-тестування за підвищеної температури.

Для оцінки якості замороженого біоматеріалу, що зберігається у формі обличьованих гранул, здійснювали відбір партії сперми конкретних бугаїв та відбирали по три дози з серії, після чого вилучали з середовища зрідженого азоту. Деконсервацію спермодоз проводили при температурі 38 °С, протягом 5–10 секунд до появи тоненького стрижню льоду.

Розгерметизацію оболонки деконсервованих спермодоз здійснювали за допомогою стерильної голки після видалення залишків води. Визначення рухливості сперми здійснювали шляхом мікроскопії при 200-кратному збільшенні безпосередньо після деконсервації та кожну наступну годину до повної загибелі спермій. Рухливість спермій визначали за 10-бальною шкалою. Кожний бал дорівнював 10 % спермій, які мали прямолінійно-поступальний рух.

Вживаність спермій визначали за кількістю годин, протягом яких сперма зберігала рухливість.

Показник абсолютної виживаності (Sa) [11] розраховували згідно з формулою :

$$Sa = a_1 + \sum (at),$$

де  $\sum$  – сума;

a – рухливість спермій за кожний наступний інтервал часу, бали;

a<sub>1</sub> – рухливість спермій після розморожування, бали;

t – проміжок часу між перевірками сперми, год.

Для проведення прискореного визначення якості кріоконсервованої сперми (експрес-тестування) використовували підвищену температуру інкубації зразків до 45 °С та визначення її виживаності.

При цьому сперму, вилучену зі зрідженого азоту, деконсервували при температурі 38 °С, після чого переносили до теплоагенту з температурою 45 °С та інкубували протягом певного часу до загибелі. Маніпуляції проводили через кожні 10 хвилин із використанням термостатованого шприцу.

Показник абсолютної виживаності при застосуванні методу експрес-тестування (Sa) [11] визначали згідно з формулою:

$$Sa = a_0 \cdot \sum a_1 \cdot 0,17 + a_2 \cdot 0,17 \dots a_n \cdot 0,17,$$

де Sa – показник абсолютної виживаності, умо.од.;

a<sub>0</sub> – рухливість сперми після деконсервації, бали\* ;



$a_1, a_2, a_n$  – активність сперми після інкубації при температурі 45 °С через кожні 10 хвилин, бали;

0,17 – часовий коефіцієнт.

Перевірку деконсервованих зразків сперми проводили з використанням візуального методу та із застосуванням комп'ютеризованої системи „Sperm Vision” [Апаратно-Программний Комплекс ВідеоТест-Сперм, ресстраційне посвідчення № 29/20010702/6102-04].

Результати досліджень опрацьовували методом варіаційної статистики на основі розрахунку середньої арифметичної ( $M$ ), відхилення показників середньої арифметичної, похибки ( $m$ ). Для визначення рівня достовірності ( $p$ ) використовували значення критерію вірогідності за Стьюдентом при трьох рівнях: \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ , які мають величину середньої арифметичної похибки, що досліджуються при малій та великій кількості об'єктів [12].

**Результати досліджень.** Результати проведених досліджень наведено у таблиці. Вивчення питання показало, що за окремі показники біологічної якості спермопродукції, яка заготовлена від помісних плідників, у порівнянні з спермопродукцією чистопородних сименталів були достовірно кращими. Так рухливість сперми помісних сименталів за результатами обстеження 30 серій спермопродукції у середньому становила  $4,45 \pm 0,27$  бала, того часу як у чистопородних плідників вона дорівнювала  $4,18 \pm 0,13$  бала, за даними обстеження 17 серій. Вживаність при 38 °С становила  $7,44 \pm 0,46$  год у сперми, заготовленої від помісних бугаїв, проти  $5,54 \pm 0,31$  год – для бугаїв чистопородного розведення ( $p < 0,05$ ).

Показник абсолютної виживаності мав достовірну різницю й дорівнював для сперми, заготовленої від помісних бугаїв  $15,73 \pm 0,69$  умов. одн, проти  $13,61 \pm 0,62$  умов. одн, сименталів чистопородного розведення ( $p < 0,05$ ). За використання методу експрес-тестування при температурі 45 °С сперма мала такі показники: показник виживаності у помісних тварин дорівнював  $64,77 \pm 3,92$  хв, у тварин чистопородного розведення –  $64,27 \pm 7,99$  хв; показник абсолютної виживаності –  $7,0 \pm 0,22$  умов. одн у помісних бугаїв, у тварин чистопородного розведення –  $7,01 \pm 0,42$  умов. одн.

При проведенні досліджень не знайдено жодної серії, в якій була б відсутньою рухливість сперми. В усіх серіях якісні показники знаходяться в межах фізіологічної норми та відповідають вимогам діючого стандарту.

Таким чином, уся спермопродукція симентальських бугаїв за показниками біологічної якості відповідала нормам ДСТУ 26030-83 „Сперма бугаїв заморожена. Технічні умови” [11]. У процесі досліджень встановлено достатньо високий показник рухливості сперми, що в середньому перевищував рівень 4,0 балів (40,0 % спермійів із прямолінійно-поступовим рухом) при достатньо високому показнику виживаності на рівні 5–7 годин. При цьому встановлено певну достовірну різницю за показником виживаності та абсолютним показником виживаності на користь помісних плідників симентальської породи.

У зв'язку з великим проміжком часу зберігання – 26-30 років, дані про нативну сперму на момент її заготівлі не збереглися. Проте відомо, що сперму на той час відбирали до кріоконсервування з рухливістю не менше 8,0-10 балів (80–100 % спермійів із прямолінійно-поступальним рухом). Отже, збереженість статевих клітин після багаторічного перебування у кріобанку в середовищі рідкого азоту знаходиться на рівні 40-50 %. Також можна зробити припущення, що свіжоотримана спермопродукція, відібрана від помісних плідників, відрізнялась вищими показниками біологічної якості сперми, у порівнянні з бугаями чистопородного

Таблиця

**Біологічні показники кріоконсервованої сперми бугаїв симентальської породи тривалого зберігання 26-30 років залежно від чиннику породності**

Належність сперми бугая, (п-обстежених еякулятів)	Рухливість (бали)				Виживаність (год)				M±m при 45 °C(хв)	Показник абсолютної виживаності (умов.одн.)				M±m при 45 °C (хв)
	M±m	CV	min	max	M±m	CV	min	max		M±m	CV	min	max	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<b>Чистопородні</b>														
Кленсель № 2759 (n=5)	4,30±0,20	10,40	4,0	5,0	5,40 ±0,24	10,14	5,0	6,0	62,0±7,35	13,10 ±0,40	6,83	12,5	14,0	6,70±0,34
Клавк № 5093 (n=7)	4,14±0,09	5,89	4,0	4,5	5,83 ±0,31	12,90	5,0	7,0	70,83±6,64	14,75 ±0,96	16,01	12,0	18,0	6,83±0,11
Еквадор №9611 (n=5)	4,10±0,10	5,45	4,0	4,5	5,40 ±0,40	16,56	5,0	7,0	60,0±10,0	13,00 ±0,52	9,02	12,0	15,0	7,50±0,88
У середньому	4,18±0,13	7,24	4,0	4,6	5,54 ±0,31	13,2	5,0	6,6	64,27±7,99	13,61 ±0,62	10,62	12,16	15,6	7,01±0,42
<b>Помісні</b>														
Альмарун №4709 симентал х 5/16 х мон х 1/4айршир х 7/16 (n=10)	4,25±0,08	6,20	4,0	4,5	7,65 ±0,50	20,68	6,0	10,0	59,0±2,33	16,15 ±0,63	12,30	12,0	19,0	7,15±0,33
Атлансин №5615 симентал 3/8 х голштин 1/2 х айршир1/8 (n=4)	4,50±0,02	9,07	4,0	5,0	8,25 ±0,21	24,49	6,5	10,0	70,0±4,08	17,25 ±0,75	8,70	16,0	19,0	7,13±0,24

Продовження табл.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Антей №7237 симентал 1/2 х ай- ршир 1/2 (n=5)	4,50±0,16	7,86	4,0	5,0	8,60 ±0,40	10,40	8,0	10,0	70,0 ±4,47	18,0 ±0,55	6,80	16,0	19,0	6,40 ±0,24
Калибр №9707 си- ментал 3/8 х айрш 1/4 х монбел 3/8 (n=5)	4,30 ±0,12	6,37	4,0	4,5	7,80 ±0,20	5,73	7,0	8,0	68,0 ±4,90	16,0 ±1,26	17,68	13,0	19,0	6,60 ±0,19
Калсіц №5303 си- ментал х 5/8 айрш 1/4 х монбел 1/8 (n=3)	4,33 ±0,17	6,66	4,0	4,5	5,67 ±0,33	10,19	5,0	6,0	58,33 ±4,41	13,33±0,33	4,33	13,0	14,0	6,67 ±0,17
Ридбул №2771 симентал 1/4 х го- лштин 3/4 (n=3)	4,83 ±0,17	5,97	4,5	5,0	6,67 ±0,33	8,66	6,0	7,0	63,33 ±3,33	13,67 ±0,67	8,45	13,0	15,0	6,83 ±0,17
В середньому, M ±m	4,45 ±0,27	7,02	4,1	4,75	7,44 ±0,33*	13,35	6,41	8,5	64,77 ±3,92	15,73 ±0,69*	9,71	13,8	14,16	7,0 ±0,22
					p<0,05					p<0,05				

Примітка. \* - p<0,05; \*\*p<0,01.





розведення. Це може бути пояснено ефектом гетерозису, характерним для плідників, отриманих шляхом схрещування тварин різних порід.

#### **Висновки:**

1. У результаті проведених моніторингових досліджень генофондної спермопродукції з кріобанку Інституту тваринництва НААН встановлено основні якісні показники сперми бугаїв-плідників симентальської породи.

2. Виявлено, що біологічна якість спермопродукції, заготовленої від чистопородних плідників симентальської породи, порівняно з помісними: симентал х голштин, симентал х айршир, симентал х голштин х айршир, нижча: рухливість – на  $0,27 \pm 0,14$  бала, виживаність – на  $1,9 \pm 0,15$  год, показник абсолютної виживаності – на  $2,12 \pm 0,07$  умов.одн.

3. Спермопродукція бугаїв-плідників, що знаходилась у кріобанку протягом 26-30 років, відповідає вимогам діючого ДСТУ „Сперма бугаїв заморожена. Технічні умови” перевищуючи мінімально-допустимі норми за основними показниками біологічної якості.

#### **Бібліографічний список**

1. Смірнов І. В. Штучне осіменіння сільськогосподарських тварин: [Підручник для учнів с-г технікумів по спеціальностях «Зоотехнія» і «Ветеринарія»]. – К. Урожай, 1969. – С.268

2. Смирнов И. В. Организация воспроизводства поголовья скота в хозяйствах промышленного типа / Смирнов И. В. // Промышленное производство молока и говядины. – М.: Колос, 1983. – С.79-84

3. Волгина В.И. Результаты замораживания семени быков различных пород и линий / В. И. Волгина, В. М. Столбов // Материалы 2-й конференции молодых ученых по генетике и разведению с.-х. животных. – Л., 1971. – Т.3. – С.53-55.

4. Басовский Н. З. Оценка быков с помощью селекционно-генетических параметров / Н. З.Басовский, В. П. Попов, Л. П. Шульга [и др.] // Новое в разведении и генетике с.-х. животных: Сб.науч.тр. ВНИИРиГЖ. – Л-град, 1973. – Вып. 19. – С. 29-35.

5. Столповский Ю. А. Консервация генетических ресурсов сельскохозяйственных животных: проблемы и принципы их решения / [под ред. И. А. Захарова]. – М.: Эребус, 1997. – 112 с.

6. Генетические ресурсы крупного рогатого скота / Уханов С.В., Столповский Ю.А., Банникова Л.В. и др.; под. ред. И.А. Захарова. – М.: Наука, 1993. – 170 с.

7. Ющенко Н. П. Замораживание спермы животных в гранулах жидким азотом / Н. П. Ющенко // Воспроизводство и искусственное осеменение с.-х. животных / ЛСХНИЛ, Всес. НПО по плем. делу в животноводстве. – 1990. – С. 31-38.

8. Данкверт А. Г. История развития животноводства / А. Г. Данкверт. - М.: Репроцентр М, 2007. – 432 с.

9. Козло Н. Е. Учебная книга техника по искусственному осеменению животных / Козло Н. Е., А. Н. Варнавский, Р. И. Пихооя – М.: Агропромиздат, 1987. – 256 с.

10. Коробко В. А. Технологические резервы увеличения заготовки спермопродукции от быков-производителей на крупных племпредприятиях: автореф. дис. на соискание науч. степени канд. с.-х. наук : 06.02.01 разведение и селекция сельскохозяйственных животных / В. А. Коробко. – Х., 1990. – 25 с.



11. ГОСТ 26030-83. Сперма быков замороженная. Технические условия. – М., 1984. – 6 с.
12. Плохинский Н. А. Биометрия. – М.: Издат Моск. Универ. – 1970. – 367 с.

**БИОЛОГИЧЕСКОЕ КАЧЕСТВО ГЕНОФОНДНОЙ СПЕРМО-ПРОДУКЦИИ ЧИСТОПОРОДНЫХ И ПОМЕСНЫХ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ СИММЕНТАЛЬСКОЙ ПОРОДЫ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО КРИОХРАНЕНИЯ**

*Савельева М. С., Институт животноводства НААН*

*В статье приведены результаты исследований биологических показателей качества генофондной спермы быков симментальской породы после длительного криохранения. Установлено отличия по некоторым качественным показателям спермы, хранившаяся в криобанке 26-30 лет, в зависимости от фактора породности производителя. В частности, установлено более высокий уровень активности, выживаемости и других показателей спермопродукции, заготовленной от помесных быков-производителей симментальской х голштинской, симментальской х айрширской, симментальской х голштинской х айрширской в сравнении с чистопородными животными.*

*Ключевые слова: быки, глубоководная сперма, деконсервация, активность, выживаемость.*

**BIOLOGICAL QUALITY OF SPERM GENE POOL OF PUREBRED AND CROSSBRED SIRES SIMMENTAL AFTER A LONG CRYO-STORAGE**

*Saveleva M., Institute of animal science, NAAS*

*The article presents the results of research into the biological quality indicators gene pool Simmental bull sperm after a long cryo-storage. Established differences on some qualitative indicators of sperm stored in Cryobank for 26-30 years, depending on the factor of breeds producer. In particular it was found a higher level of activity, survival and other indicators of sperm harvested from crossbred sires Simmental x Holstein, Simmental x Ayrshire, Simmental x Holstein x Ayrshire in comparison to purebred animals.*

*Keywords: bulls, deep frozen sperm, Depreserve, activity, survival.*