

ЯКІСНІ ПОКАЗНИКИ СПЕРМІЇВ БУГАЇВ МОЛОЧНИХ І М'ЯСНИХ ПОРІД

А. О. Ляшенко, науковий співробітник

Черкаська дослідна станція біоресурсів НААН
вул. Пастерівська, 76, м. Черкаси, 18007, Україна

За результатами досліджень морфологічних і фізіологічних показників спермій бугаїв молочних і м'ясних порід Банку генетичних ресурсів встановлено вірогідну міжпородну різницю між фізіологічними і морфологічними характеристиками спермій. За допомогою дисперсійного аналізу визначено частку впливу індивідуальних особливостей бугая на якісні показники сперми на рівні 40–60%. У спермодозах бугаїв молочних та м'ясних порід, було підраховано, що у 26% спермодоз містилося в середньому 21 млн. клітин із ППР (вище норми на 6,0 млн.), а в 24,5% спермодоз — відповідно 13,0 млн. клітин із ППР (нижче за норму на 2,0 млн.). Встановлено, що у спермі деяких бугаїв симентальської, української та волинської м'ясної порід, спостерігались вища кількість патологічних форм (більше 25%), більша кількість клітин із пошкодженою акросомою (більше 30,0%) та знижені показники виживаності (3,8 години). У спермі деяких бугаїв молочних та м'ясних порід якісні показники відповідали нормативним вимогам та мали такі значення патологічних форм — 17,5%, виживаності — 5,7 годин і рухливості — 6,4 бали.

Ключові слова: СПЕРМА, ПРЯМОЛІНІЙНО-ПОСТУПАЛЬНИЙ РУХ, ДИНАМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ РУХУ, ВИЖИВАНІСТЬ, АБСОЛЮТНИЙ ПОКАЗНИК ВИЖИВАНОСТІ СПЕРМІЇВ, ПАТОЛОГІЧНІ ФОРМИ, ПОШКОДЖЕНІ АКРОСОМИ, МОЛОЧНІ І М'ЯСНІ ПОРОДИ.

Кріоконсервація і довготривале зберігання сперми є важливою складовою збереження генетичних ресурсів бугаїв-плідників. За останні роки досягнуті значні успіхи у розробці методів кріоконсервації сперми сільськогосподарських тварин і багатьох видів ссавців. Найбільше практичне значення метод заморожування сперматозоїдів набув у розведенні великої рогатої худоби. В розвинених країнах понад 90% корів осіменяють спермою, що зберігалася в замороженому стані [1-3]. Згідно з Програмою збереження генофонду локальних та зникаючих порід, існує необхідність в накопичуванні генетичного матеріалу в кріобанках від видатних тварин, з метою його подальшого зберігання та можливості використання в селекційному процесі [4, 5]. Існують різні думки щодо термінів і якості біопродукції, що зберігалася довготривалий час в рідкому азоті. В процесі довготривалого зберігання у сперміях можуть відбуватися незворотні порушення у будові головки чи хвоста. Серед науковців не має єдиної думки щодо морфологічного стану спермій бугаїв молочних і м'ясних порід за різних термінів зберігання [6–9]. У спермобанку Інституту розведення і генетики тварин НААН імені М. В. Зубця у рідкому азоті зберігається сперма майже 200 бугаїв 25 порід. Однак дані про показники якості даної сперми у різних бугаїв молочних і м'ясних порід в порівнянні до середнього значення по породі відсутні. Дослідження спрямовані на порівняльний аналіз якісних індивідуальних показників сперми бугаїв і є актуальним, з точки зору подальшого використання для осіменіння маточного поголів'я тварин з кращими параметрами спермопродукції.

Метою роботи було вивчити якісні показники сперми бугаїв молочних і м'ясних порід з урахуванням впливу індивідуальних особливостей бугая та породної належності.

Матеріали і методи. У дослідженнях використовували криоконсервовану сперму 125 бугаїв 10 порід м'ясного, молочного і комбінованого напрямків продуктивності. Термін зберігання досліджуваних спермодоз становив 10-45 років. Оцінку показників рухливості, динамічних характеристик руху та виживаності сперматозоїдів проводили в лабораторії племпідприємства Черкаського ПрАТ НВО «Прогрес» з використанням програмного комп'ютерного аналізу рухливості – Sperm Vision фірми «Minitub». Дослідження морфологічних і фізіологічних характеристик спермій бугаїв проводили за загальноприйнятою методикою з використанням мікроскопа Olympus CX-31. Стан акросоми спермій визначали шляхом фарбування зразків 50% розчином азотнокислого срібла. Підготовлені препарати сперматозоїдів аналізували при збільшенні в 600-1500 разів згідно ГОСТу 20909.3-75. Дослідження кількості спермій з прямолінійно-поступальним рухом (ППР) у дозі сперми бугаїв молочних і м'ясних порід, проводили згідно ГОСТу 27777-88 [10]. Нами було розділено якісні показники сперми бугаїв різних порід на класи (категорії). Поділ на клас якості сперми визначали за допомогою середнього арифметичного значення (M) $\pm 0,67$ сігми. Залежно від індивідуальних особливостей, бугаїв було віднесено до тварин із показниками сперми високої, середньої і низької якості.

Одержані матеріали наукових досліджень обробляли методами математичної статистики засобами програмного пакету «Statistica – 6.1».

Результати й обговорення. В результаті проведених досліджень встановлено, що кількість патологічних форм була нижчою в середньому на 1,2% у спермі бугаїв української червоно-рябої молочної (далі — УЧЕРМ) та голштинської порід ($p < 0,01$), ніж середнє значення за молочними породами. У бугаїв симентальської породи відповідно, це значення було вище на 1,9 % разом із значенням відсотку мертвих клітин на 2,5 % ($p < 0,001$) (табл. 1).

Таблиця 1

Фізіологічні і морфологічні показники якості сперми бугаїв молочних порід, $M \pm m / C_v$ % (n=84)

Показники якості сперми, C_v %	Середні значення за породами	УЧЕРМ	Голштини	Симентали
Патологічні форми, %	20,6 \pm 0,17	19,1 \pm 0,3*	19,7 \pm 0,23*	22,5 \pm 0,3*
	14,4	13,6	11,5	13,2
% мертвих клітин	30,9 \pm 0,5	31,6 \pm 1,1	30,2 \pm 0,8	33,4 \pm 1,0*
	28,3	26,7	25,9	28,6
Вживаність, год	4,9 \pm 0,05	5,1 \pm 0,1	4,9 \pm 0,1	4,6 \pm 0,1*
	18,4	17,3	16,8	21,5
% пошкоджених акросом	23,2 \pm 0,2	21,8 \pm 0,5*	23,9 \pm 0,4	23,7 \pm 0,4
	16,5	17,9	15,6	16,4
Кількість клітин з ППР, млн.	17,3 \pm 0,2	17,2 \pm 0,5	17,0 \pm 0,3	17,7 \pm 0,4
	17,7	20,5	15,5	18,8
ППР, бали	5,5 \pm 0,1	5,6 \pm 0,1	5,6 \pm 0,1	5,3 \pm 0,1
	16,0	14,6	14,3	18,0
АПВ, ум. од.	19,2 \pm 0,3	20,2 \pm 0,7	19,3 \pm 0,5	17,5 \pm 0,6*
	29,0	26,7	27,5	32,4
Фактична пройдена відстань (DCL), мкм	54,0 \pm 0,5	56,4 \pm 1,3	55,4 \pm 0,9	50,8 \pm 0,8*
	16,0	17,5	15,4	15,1
Прямолінійна швидкість руху (VSL), мкм/с	55,9 \pm 0,7	60,1 \pm 1,7*	57,6 \pm 1,1	52,0 \pm 0,9*
	19,6	22,1	18,4	16,9
Середня швидкість руху (VAP), мкм/с	69,8 \pm 0,7	74,5 \pm 1,8*	71,3 \pm 1,1	65,3 \pm 1,0*
	16,0	18,2	14,9	13,7
Фактична швидкість руху (VCL), мкм/с	123,3 \pm 1,1	129,2 \pm 2,8*	126,0 \pm 1,9	116,1 \pm 1,8*
	15,4	16,7	14,9	14,2

Примітка: у цій і наступній таблицях: * $P < 0,05$.

Встановлено, що кількість пошкоджених акросом у спермі бугаїв УЧеРМ менше на 1,4% ($p < 0,01$), ніж середнє значення за молочними породами. У бугаїв симентальської породи виявлено нижчу виживаність (на 0,3 години) та абсолютний показник виживаності (далі — АПВ) (на 1,7 ум. од.), ніж середнє значення за молочними породами ($p < 0,05$) (табл. 1). При порівнянні динамічних характеристик сперміїв бугаїв, встановлено, що нижчими в середньому на 5 мкм/с були показники швидкості руху сперміїв у бугаїв симентальської породи ($p < 0,01$), а вищими на 4,9 мкм/с у бугаїв УЧеРМ ($p < 0,05$), ніж середнє значення за породами.

Серед української та волинської м'ясної порід не встановлено вірогідної різниці за якісними показниками сперми відносно середнього значення по загальній вибірці. Це свідчить про генетичну схожість (про спільність за походженням) між собою даних порід. Важливо відмітити, що параметри виживаності були дещо знижені відносно норми (4,7 години), а кількість патологічних клітин перевищувала норму в середньому на 3,5 % (табл. 2). Коефіцієнт мінливості якісних показників у спермі бугаїв молочних і м'ясних порід в середньому по вибірці становив $C_v = 8,9-32,4$ %.

Таблиця 2

Фізіологічні і морфологічні показники якості сперми бугаїв м'ясних порід, $M \pm m/C_v$ % (n=41)

Показники якості сперми, C_v %	Середні значення за породами	УМП	ВМП
Патологічні форми, %	21,8±0,3 12,8	21,3±0,3 8,9	21,8±0,5 12,6
% мертвих клітин	32,6±0,8 27,0	33,7±1,3 28,9	34,3±1,1 20,0
% пошкоджених акросом	22,8±0,5 22,3	23,4±0,8 23,5	22,7±0,7 18,7
Кількість клітин з ППР, млн.	16,5±0,3 18,2	16,1±0,4 16,2	15,5±0,4 14,8
Вживаність, год	4,8±0,1 19,7	4,6±0,1 20,2	4,8±0,1 16,4
ППР, бали	5,3±0,1 15,7	5,2±0,1 16,0	5,1±0,1 13,8
АПВ, ум. од.	18,6±0,5 28,4	17,9±0,7 29,8	18,3±0,8 24,7
Середня швидкість руху (VAP), мкм/с	66,2±0,8 13,5	67,2±1,2 13,2	67,0±1,5 13,1

Примітка: УМП – українська м'ясна порода; ВМП – волинська м'ясна порода

У спермі бугаїв молочних і м'ясних порід кількість клітин у дозі з ППР відповідала існуючим вимогам державного стандарту (згідно ДСТУ – 15 млн. клітин з ППР). Лише в спермодозах окремих бугаїв симентальської і деяких м'ясних порід спостерігалися нижчі значення цього показника за ДСТУ (12-14 млн.) (табл. 1). Кількість клітин у дозі з ППР характеризується середнім рівнем мінливості (C_v , % = 14,8-20,5), що свідчить про різну кількість сперміїв у дозі і різні розміри спермодоз (табл. 1, 2).

Встановлено, що у 25% спермодоз бугаїв м'ясних порід значення патологічних форм були близькими до норми і становили 18,9% (на 0,9% вище норми). У бугаїв волинської (Циркуль 614, Циган 893) і української м'ясної (Буран 1459, Чек 1435) порід кількість сперміїв із нормальною акросомою становила в середньому 77 %. Слід зазначити, що 13% спермодоз бугаїв мали високі показники виживаності (6,1 бали), кількість живих клітин (79,2%), ППР (6,5 бали) і АПВ (26,9 ум. од.). Такі значення спостерігалися у бугаїв Флінт 8790014838, Індієць 1057, Лазер 10155, Буран 1459.

Низькі значення показників виживаності (3,6 бали), ППР (4,2 бали) і АПВ (11,9 ум. од.) спостерігалися у 20% спермодоз бугаїв Жеріко 8574103527, Баян 03365, Маскарад 177,

Чародій 805, Цвіт 618, Таран 0042. Слід відмітити, що у 23% спермодоз бугаїв частка патологічних форм становила 25,5%, що на 7,5% є нижче за норму.

Нижчі значення кількості патологічних форм (14,8 %) спостерігалися у бугая породи шароле – Віджилант 7984100703. Виживаність спермій при цьому була на рівні 5,9 години, ППР – 7,1 бали і АПВ – 29,5 ум. од. При дослідженні кількості клітин з ППР у спермодозах бугаїв м'ясних порід встановлено, що у 26% спермодоз містилося в середньому 20,5 млн. клітин із ППР (вище норми на 5,5 млн.), а в 24% містилося в середньому 13,0 млн. клітин із ППР (нижче за норму на 2,0 млн.).

У 22% спермодоз бугаїв молочних порід відсоток патологічних форм сягав 24,7%, що на 6,7% є нижче за норму. Відповідно значення виживаності (4 бали), ППР (4,6 бали) та АПВ (13,7) у цьому випадку також були низькими. До цих бугаїв відносяться Нирок 5557, Костер 66, Утман 20364, Ларнет 4927, Садовий 6368, Пушистий 1395. Слід зазначити, що найнижчі значення кількості патологічних форм (17,1%) спостерігалися у 12% спермодоз бугаїв: Щасливий 1933/965, Рігел 405635/280, Тассо 4676876/4903, Еней 81, Тріпле 373840244/244, Зіркий 6924, Жолудь 6629, Корал 1659, Демон 393094/314.

Відповідно для даних бугаїв виживаність була 5,5 години, ППР – 6,2 бали і АПВ – 24,3 ум. од. Також було підраховано кількість клітин з ППР у спермодозі бугаїв молочних порід, та виявлено, що у 26% спермодоз містилося в середньому 21,3 млн. клітин із ППР (вище норми на 6,3 млн.), а в 25% спермодоз міститься в середньому 13,5 млн. клітин із ППР (нижче за норму на 1,5 млн.).

ВИСНОВКИ

1. Отримані результати досліджень свідчать про можливість осіменіння маток спермою бугаїв молочних і м'ясних порід, що зберігалася у спермобанку Інституту розведення і генетики тварин НААН імені М. В. Зубця (за необхідності, згідно селекційно-плеємної роботи), у зв'язку з тим, що ця сперма має високі значення виживаності, рухливості і морфології.

2. За допомогою дисперсійного аналізу визначено частку впливу індивідуальних особливостей бугая на якісні показники сперми на рівні 40–60%. Встановлено, що найнижчі значення кількості патологічних форм (14,8 %) та вищі показники виживаності (5,9 години), ППР (7,1 бали) і АПВ (29,5 ум. од.) спостерігалися у бугая породи шароле – Віджиланта 7984100703.

3. У спермі деяких бугаїв симентальської, української та волинської м'ясної порід, кількість патологічних форм (більше 25%), кількість клітин з пошкодженою акросомою (більше 30,0%) була вищою гранично допустимих норм згідно ДСТУ та знижені показники виживаності (3,8 години). Серед деяких бугаїв молочних та м'ясних порід сперма мала такі показники морфології (17,5%), виживаності (5,7 годин) і рухливості (6,4 бали), що відповідали нормативним вимогам.

Перспективи подальших досліджень. Результати досліджень мають поглибити теоретичні знання про індивідуальні особливості бугаїв молочних і м'ясних порід за умов довготривалого зберігання та в подальшому можуть бути використані для наступної (чергової) оцінки якості сперми і запліднювальної здатності даних бугаїв у процесі збереження генофонду.

QUALITY INDICATORS OF SPERM BULLS OF DAIRY AND BEEF BREEDS

A. A. Lyashenko

Cherkasy Experimental Station of Bioresources of NAAS
76, Pasterivska, str., Cherkasy, 18007, Ukraine

S U M M A R Y

According to the research of the morphological and physiological parameters of spermatozoa bulls of dairy and beef breeds of Bank genetic resources found probable variation among breeds between physiological and morphological characteristics of sperm. Using analysis of variance determined share of influence on the individual characteristics of bull sperm quality indicators at the level of 40-60%. In 26% sperm doses bulls of dairy and beef breeds, it has been estimated an average of 21 million cells with straight-forward movement (above normal by 6.0 mln.), and 24.5% respectively, sperm doses 13.0 million cells with straight-forward movement (below normal at 2.0 mln.). It was established that some semen Simmental bulls, Volyn and Ukrainian beef breeds, observed a higher number of pathological forms (over 25%), greater number of cells with damaged acrosome (over 30.0%) and reduced survival rates (3.8 hours). In the semen of bulls of dairy and beef breeds quality indicators conform the regulatory requirements and have the meanings pathological forms - 17.5% survival rate - 5.7 hours and motility - 6.4 points.

Key words: SPERM, STRAIGHT-FORWARD MOVEMENT, THE DYNAMIC CHARACTERISTICS OF MOTILITY, SURVIVAL, ABSOLUTE SURVIVAL RATE OF SPERM, ABNORMAL FORMS, DAMAGED ACROSOME, DAIRY AND BEEF BREEDS.

КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМИЕВ БЫКОВ МОЛОЧНЫХ И МЯСНЫХ ПОРОД

А. А. Ляшенко

Черкасская опытная станция биоресурсов НААН
ул. Пастеровская, 76, г. Черкассы, 18007, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

По результатам исследований морфологических и физиологических показателей спермиев быков молочных и мясных пород Банка генетических ресурсов установлено достоверную межпородную разницу между физиологическими и морфологическими характеристиками спермиев. С помощью дисперсионного анализа определена доля влияния индивидуальных особенностей быка на качественные показатели спермы на уровне 40-60%. В спермодозах быков молочных и мясных пород, было подсчитано, что в 26% спермодоз содержалось в среднем 21 млн. клеток с ППР (выше нормы на 6,0 млн.), а в 24,5% спермодоз соответственно 13,0 млн. клеток с ППР (ниже нормы на 2,0 млн.).

Установлено, что в сперме некоторых быков симментальской, украинской и волынской мясной пород, наблюдалось большее количество патологических форм (более 25%), большее количество клеток с поврежденной акросомой (более 30,0%) и снижены показатели выживаемости (3,8 часа). В сперме некоторых быков молочных и мясных пород качественные показатели соответствовали нормативным требованиям и имели следующие значения патологических форм — 17,5%, выживаемости - 5,7 часов и подвижности - 6,4 балла.

Ключевые слова: СПЕРМА, ПРЯМОЛИНЕЙНО-ПОСТУПАТЕЛЬНОЕ ДВИЖЕНИЕ, ДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДВИЖЕНИЯ, ВЫЖИВАЕМОСТЬ, АБСОЛЮТНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ВЫЖИВАЕМОСТИ СПЕРМИЕВ, ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ФОРМЫ, ПОВРЕЖДЕННЫЕ АКРОСОМЫ, МОЛОЧНЫЕ И МЯСНЫЕ ПОРОДЫ.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Наук В. А.* Длительное сохранение спермы сельскохозяйственных и диких животных / В. А. Наук, Г. В. Борончук, Н. Н. Ротт // Сб. научных трудов «Консервация генетических ресурсов» Пушино. 1991. — С. 35–81.
2. *Смирнов І. В.* Штучне осіменіння сільськогосподарських тварин / І. В. Смирнов // 3-є вид., доповнене і перероблене. — К.: Вища школа. Головне вид-во, 1982. — 256 с.
3. *Dinnyes A.* Novel gamete storage / A. Dinnyes, J. Liu, T. L. Nedambale // *Reproduction, Fertility and Development*. — 2007. — № 19. — P. 719–731.
4. *Зубець М. В.* Методологічні аспекти збереження генофонду сільськогосподарських тварин / М. В. Зубець, В. П. Буркат, Ю. Ф. Мельник та ін. // *Наук. ред. І. В. Гузев.* — К.: Аграрна наука, 2007. — 120 с.
5. Програма збереження локальних та зникаючих порід сільськогосподарських тварин в Україні (згідно вимогами ФАО). «Збереження генофонду». Інститут розведення і генетики тварин НААН — Чубинське, 2013. — 24 с.
6. *Ляшенко А. О.* Морфологічний аналіз сперми бугаїв довготривалого зберігання / А. О. Ляшенко // *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. 2014. — № 1. — С. 130–133.
7. *Ляшенко А. О.* Морфологічні і фізіологічні характеристики сперми бугаїв довготривалого зберігання / А. О. Ляшенко // *Інститут розведення і генетики тварин НААН / Міжвід. темат. зб. наук. праць.* — Київ. — 2014. — № 48. — С. 236–244.
8. *Ляшенко А. А.* Биологические показатели размороженной спермы быков разного срока хранения в жидком азоте / А. А. Ляшенко // *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. — 2014. — № 8. — С. 89–93.
9. *Сірацький Й. З.* Життєздатність спермій від плідників різних молочних порід / Й. З. Сірацький, О. В. Бойко, Є. І. Федорович // *Тваринництво України*, 2010. — № 3. — С. 12–16.
10. *Преображенский О. Н.* Определение количества спермиев в дозе разбавленной спермы производителей // О. Н. Преображенский // *Физиология и патология обмена веществ у продуктивных животных*. Казань, 1985. — С. 101–103.

Рецензент — Ю. М. Сотніченко, к. с.-г. н., Черкаська дослідна станція біоресурсів НААН.