

ЯКІСНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕКОНСЕРВОВАНИХ СПЕРМАТОЗОЇДІВ БУГАЇВ РІДКІСНИХ І ЗНИКАЮЧИХ ПОРІД

Ляшенко А. О.

Черкаська дослідна станція біоресурсів ІРГТ НААНУ

Проведено дослідження показників рухливості, динамічних характеристик руху та виживаності деконсервованих сперматозоїдів бугаїв рідкісних та зникаючих порід залежно від термінів зберігання. Встановлено, що динамічні характеристики руху сперматозоїдів взаємопов'язані з показниками рухливості і виживаності та можуть слугувати додатковими показниками при оцінці якості сперми.

Визначено показники прямолінійно-поступального руху та абсолютного показника виживаності сперматозоїдів бугаїв Банку генетичних ресурсів за різних термінів зберігання.

кріоконсервована сперма, рухливість сперматозоїдів, виживаність, довготривале зберігання, бура карпатська, лебединська, сіра українська, білоголова українська породи

Повноцінна реалізація заходів зі збереження племінних ресурсів сільськогосподарських тварин забезпечується на основі створення генофондових стад у поєднанні з кріоконсервацією та довготривалим зберіганням генетичного матеріалу в кріобанках [1].

В умовах наднизьких температур рідкого азоту обмінні процеси в сперматозоїдах уповільнюються в мільйони разів. Перебуваючи у стані глибокого анабіозу, спермії можуть зберігати свої біологічні властивості і передавати генетичну інформацію впродовж багатьох років і навіть десятиліть [9]. У літературних джерелах є достатньо інформації щодо об'ємів та форм збереження генетичного матеріалу [6]. Однак дані щодо термінів зберігання кріоконсервованої сперми застарілі, небагаточисельні та надто суперечливі.

Науковими дослідженнями Ф. І. Осташко (1978), В. Петер (1978), А. П. Кругляка (2001) встановлено, що глибокозаморожена сперма бугаїв може зберігати на високому рівні показники рухливості, виживаності та запліднювальної здатності до 10 років. У літературних джерелах є інформація щодо зберігання сперми бугаїв до 15 років. За даними Мікснера та Г. Лубера (1975) рівень заплідненості корів від осіменіння замороженою спер-

мою утримувався на однаковому рівні протягом 15 років. Разом з тим, при збереженні сперми впродовж 14-15 років дещо знижуються (на 3-4 %) показники рухливості сперматозоїдів, споживання кисню та цілісності акросоми статевих клітин [2, 4, 5, 7].

Процес кріоконсервації сперми став цінним інструментом для збереження генетичних ресурсів плідників зникаючих видів, що має велике значення у розведенні і підтриманні біорізноманіття [3, 10]. В результаті голштинізації і створення більш продуктивних молочних порід витісняється генофонд місцевих популяцій білоголової, сірої української, лебединської і бурої карпатської порід, втрачається їхня спадковість. Визначення якісних показників сперми бугаїв рідкісних і зникаючих порід, що зберігалася в рідкому азоті понад 15 років зумовлює актуальність наших досліджень в даному напрямку.

Метою даної роботи було оцінити показники рухливості, динамічні характеристики руху та виживаності сперматозоїдів бугаїв рідкісних та зникаючих порід залежно від термінів зберігання.

Матеріал та методика проведення досліджень. В дослідженнях використали кріоконсервовану сперму 22 бугаїв бурої карпатської, лебединської, сірої і білоголової української порід. Досліджувані спермодози зберігалися в Банку генетичних ресурсів ІРГТ НААН від 10 до 44 років. Нами було розділено сперму бугаїв на три групи: перша – з термінами зберігання 10-20 років, 2-га – 21-30 років і 3-я – 31-44 років. Оцінку показників рухливості та динамічних характеристик руху сперматозоїдів проводили в лабораторії з виробництва генетичної продукції сільськогосподарських тварин Головного племпідприємства Черкаського ПРАТ НВО «Прогрес» з використанням програмного комп'ютерного аналізу рухливості – Sperm Vision фірми «Minitub». Матеріали наукових досліджень обробляли методами математичної статистики за алгоритмами Плохинського Н. А. засобами програмного пакету «Statistica – 6.1» у середовищі Windows на ПЕОМ [8].

Результати досліджень. За результатами досліджень встановлено, що сперма бугаїв різних термінів зберігання відповідала вимогам державного стандарту, крім сперми бугаїв бурої карпатської породи з термінами зберігання другої і третьої групи. Виживаність сперматозоїдів даної породи після розморожування становила 4 години (табл. 2, 3).

З терміном зберігання 10-20 років було досліджено сперму бугаїв бурої карпатської і білоголової української порід. Виживаність перевищувала 5 годин. Прямолінійно-поступальний рух (ППР) сперматозоїдів бугаїв білоголової української породи становив 6,5 бали, що вище на 0,4 бала ніж ППР сперматозоїдів бугаїв бурої карпатської породи ($p > 0,05$) (табл. 1). Абсолютний показник виживаності (АПВ) сперматозоїдів бугаїв білоголової української породи виявився вищий за АПВ сперматозоїдів бугаїв бурої карпатської породи на 18,1 %, але різниця не вірогідна (табл. 1).

Встановлено, що при терміні зберігання 21-30 років у сперматозоїдів

ТВАРИННИЦТВО
LIVE STOCK FARMING

бугаїв білоголової української породи спостерігалася найвища рухливість і АПВ. ППР сперматозоїдів був вищий за інші породи в середньому на 17,2 % ($p < 0,05$), а АПВ на 44,4 % ($p < 0,001$) (табл. 2).

Таблиця 1. Якісні показники сперми бугаїв комбінованих і молочних порід при терміні зберігання 10-20 років (n=6)

Порода	Оцінка при розморожуванні	Вживаність, год (ППР, бали) M±m/C _v						АПВ, ум. од. M±m/C _v
	ППР, бали M±m/C _v	1	2	3	4	5	6	
Бура карпатська	6,1±0,3	5,8±0,4	4,6±0,4	3,3±0,5	2,1±0,4	1,3±0,2	0,7±0,1	23,1±2,9
	20,6	20,5	23,1	42,5	55,9	35,4	27,5	31,3
Білоголова українська	6,5±0,2	6,0±0,1	5,5±0,1	4,4±0,1	3,3±0,1	1,7±0,1	0,8±0,1	28,2±0,7
	6,3	11,5	13,1	12,5	17,1	15,4	17,5	31,5
Середнє за породами	6,3±0,3	5,9±0,3	5,1±0,3	3,9±0,3	2,7±0,3	1,5±0,2	0,7±0,1	25,7±1,8
	13,5	14,9	18,5	30,7	36,5	23,6	22,5	27,9

Для бурої карпатської породи ППР становить 4,6 бали, що нижче ніж в інших порід в середньому на 23,9 % ($p < 0,01$), а АПВ виявився нижче за ДСТУ на 5 %, а за інші породи в середньому на 50,1 % ($p < 0,001$) (табл. 2). Сперматозоїди бугаїв лебединської і сірої української породи мали достатньо високі показники ППР і АПВ.

Таблиця 2. Якісні показники сперми бугаїв локальних і зникаючих порід при терміні зберігання 21-30 років

Порода	Оцінка при розморожуванні	Вживаність, год (ППР, бали) M±m/C _v						АПВ, ум. од. M±m/C _v
	ППР, бали M±m/C _v	1	2	3	4	5	6	
Сіра українська (n=10)	6,1±0,2	5,6±0,2	4,7±0,3	3,5±0,3	2,1±0,4	1,0±0,2	0,5±0,2	23,2±1,3
	6,3	9,2	12,8	20,5	37,5	38,2	87,5	12,6
Лебединська (n=15)	5,7±0,4	5,1±0,4	4,5±0,4	3,6±0,4	2,5±0,4	1,9±0,3	0,9±0,2	23,9±2,6
	21,5	25,2	30,1	39,1	48,9	41,6	49,7	34,4
Бура карпатська (n=6)	4,6±0,2	3,5±0,2	1,8±0,1	1,0±0,1	0,5±0,1	-	-	11,4±0,4
	6,7	12,2	7,2	20,7	11,7	-	-	11,7
Білоголова українська (n=10)	6,6±0,1	6,5±0,1	6,1±0,1	5,4±0,2	4,3±0,1	3,2±0,3	1,9±0,3	35,1±1,1
	3,7	7,1	11,5	10,2	12,3	14,7	25,2	8,2
Середнє за породами	5,8±0,2	5,2±0,2	4,3±0,2	3,4±0,3	2,4±0,3	2,0±0,3	1,0±0,2	23,4±1,4
	9,6	13,4	15,4	22,6	27,6	31,6	54,1	16,7

ТВАРИННИЦТВО
LIVE STOCK FARMING

Результати досліджень свідчать, що ППР сперматозоїдів бугаїв бурої карпатської породи виявились нижчими за ППР сперматозоїдів бугаїв інших порід в середньому на 19,2 % ($p<0,01$), а виживаність становила 4 години. АПВ сперматозоїдів відповідав ДСТУ, але був нижчий за АПВ інших порід в середньому на 37,2 % ($p<0,001$) (табл. 3).

Таблиця 3. Якісні показники сперми бугаїв локальних і зникаючих порід при терміні зберігання 31-44 років ($n=10$)

Порода	Оцінка при розморожуванні	Вживаність, год (ППР, бали) $M\pm m/C_v$						АПВ, ум. од. $M\pm m/C_v$
	ППР, бали $M\pm m/C_v$	1	2	3	4	5	6	
Сіра українська	6,8±0,2 11,5	5,9±0,3 11,6	4,8±0,4 20,4	3,5±0,4 29,8	2,5±0,4 46,1	1,5±0,4 67,7	0,8±0,2 32,5	25,7±2,9 25,1
Бура карпатська	5,3±0,2 13,7	4,5±0,1 9,2	3,1±0,1 8,7	1,7±0,1 11,8	0,7±0,1 19,8	-	-	15,3±0,5 15,3
Білоголова українська	6,3±0,3 12,7	5,2±0,3 23,2	4,4±0,4 35,7	3,4±0,5 47,8	2,2±0,5 55,8	1,2±0,4 43,2	0,7±0,2 53,8	23,1±2,1 37,7
Середнє за породами	6,1±0,2 12,6	5,2±0,2 14,8	4,1±0,3 21,6	2,9±0,3 25,9	1,8±0,3 40,6	1,3±0,3 55,6	0,7±0,2 47,8	21,4±1,8 26,1

Слід вказати, що для сперматозоїдів бугаїв бурої карпатської породи першої групи характерна найвища рухливість, що більша за інші терміни зберігання в середньому на 18,9 % ($p<0,05$), а АПВ вищий на 42,2 % ($p<0,01$).

Встановлено, що ППР сперматозоїдів бугаїв білоголової української породи становив в середньому 6,4 бала за всі терміни зберігання, а АПВ 27,9 ум. од., що свідчить про високу біологічну повноцінність сперми бугаїв. АПВ сперматозоїдів бугаїв другої групи був вищий за інші терміни зберігання на 27,0 % ($p<0,001$).

Визначено, що для сперматозоїдів бугаїв сірої української породи ППР був вищий при терміні зберігання 31-44 роки, ніж другої групи, на 10,3 % ($p<0,05$), а АПВ на 9,7 %, але різниця не вірогідна.

Встановлено, що відстань по реальній траєкторії руху сперматозоїдів бугаїв бурої карпатської породи першої групи вище за другу і третю групи в середньому на 23,8 % ($p<0,001$). Відстань по прямій руху сперматозоїдів бугаїв першої групи вище за другу і третю групи в середньому на 23,3 % ($p<0,05$). Фактична швидкість руху сперматозоїду по реальній траєкторії у бугаїв першої групи вище за другу і третю групи в середньому на 24,0 % ($p<0,001$). Прямолінійна швидкість руху сперматозоїдів бугаїв першої групи була вище за другу і третю групи в середньому на 24,8 % ($p<0,01$) (табл. 4).

ТВАРИННИЦТВО
LIVE STOCK FARMING

Таблиця 4. Динамічні характеристики руху сперматозоїдів бугаїв бурої карпатської породи залежно від термінів зберігання (n=22)

Показники	Термін зберігання, роки (M±m)		
	10-20	21-30	31-44
Відстань по реальній траєкторії руху, (мкм)	67,9±2,0	52,7±2,2	50,7±1,0
Відстань по прямій, (мкм)	30,4±2,0	24,1±2,3	22,5±1,1
Фактична швидкість руху сперматозоїду по реальній траєкторії, мкм/с	156,2±5,9	119,6±7,9	117,7±5,4
Прямолінійна швидкість руху сперматозоїду, мкм/с	70,2±4,5	53,7±3,7	51,9±2,2

Встановлено, що відстань по реальній траєкторії руху сперматозоїдів бугаїв білоголової української породи першої групи вище за другу і третю групи в середньому на 15,1 % ($p<0,05$). Відстань по прямій руху сперматозоїдів бугаїв першої групи вище за другу і третю групи в середньому на 20,9 % ($p<0,001$).

Фактична швидкість руху сперматозоїду по реальній траєкторії у бугаїв першої групи вище за другу і третю групи в середньому на 14,0 % ($p<0,05$). Прямолінійна швидкість руху сперматозоїдів бугаїв першої групи була вище за другу і третю групи в середньому на 21,0 % ($p<0,01$) (табл. 5).

При порівнянні показників динамічних характеристик руху сперматозоїдів бугаїв різних порід не було встановлено вірогідної міжпородної різниці за відповідних термінів зберігання.

Таблиця 5. Динамічні характеристики руху сперматозоїдів бугаїв білоголової української породи залежно від термінів зберігання (n=26)

Показники	Термін зберігання, роки (M±m)		
	10-20	21-30	31-44
Відстань по реальній траєкторії руху, (мкм)	62,7±1,8	53,1±3,2	53,4±2,9
Відстань по прямій, (мкм)	32,1±1,2	24,3±1,7	26,5±0,9
Фактична швидкість руху сперматозоїду по реальній траєкторії, мкм/с	144,7±2,8	124,6±7,5	121,8±7,6
Прямолінійна швидкість руху сперматозоїду, мкм/с	74,7±2,7	57,3±4,1	60,8±2,2

Висновки: Результати досліджень якості кріоконсервованої сперми бугаїв бурої карпатської, сірої української, білоголової української та лебединської порід вказують на те, що біологічна повноцінність сперматозоїдів цих порід, упродовж довготривалого зберігання їх у рідкому азоті, не зазнала суттєвих змін і відповідала чинному ДСТУ (крім бурої карпатської породи). Водночас, спостерігалися високі показники рухливості, виживаності та деяких динамічних характеристик руху сперматозоїдів окремих бугаїв, що

очевидно пов'язане з індивідуальним впливом бугая на якість сперми і її кріорезистентність до заморожування. При терміні зберігання 21-30 років спостерігалися найвищі значення ППР, виживаності та АПВ сперматозоїдів бугаїв білоголової української породи, а найнижчі значення у сперматозоїдів бугаїв бурої карпатської породи.

Встановлено, що динамічні характеристики руху сперматозоїдів взаємопов'язані з показниками ППР і АПВ і можуть слугувати додатковими показниками при оцінці якості сперми ($r=24,7-67,5$). Найвищі показники динамічних характеристик руху сперматозоїдів бугаїв бурої карпатської і білоголової української порід спостерігалися у першій групі.

Отже, високі показники ППР і АПВ за термінів зберігання 10-20 років для сперматозоїдів бугаїв бурої карпатської та білоголової української порід, за термінів зберігання 31-44 роки для сірої української породи, на нашу думку, зумовлені індивідуальним впливом бугая, різними умовами утримання і годівлі бугаїв, технологією заморожування та умовами зберігання спермодоз.

Таким чином, отримані результати свідчать про необхідність періодичного моніторингу якісних показників сперми даних порід для встановлення доцільності її довготривалого зберігання та використання в селекційному процесі.

Список використаних джерел

1. *Буркат В. П.* Банк генетичних ресурсів – основа прискореного виведення нових та збереження локальних порід / В. П. Буркат, А. П. Кругляк // Біотехнологічні, селекційні та організаційні методи відтворення, зберігання і використання генофонду тварин: Зб. наук. пр. УААН. Нац. об-ня по плем. справі у тваринництві. – К., 1997. – С. 173-175.
2. *Дмитраш М. А.* Якість та запліднювальна здатність замороженої сперми бугаїв залежно від тривалості її зберігання в рідкому азоті / М. А. Дмитраш / Розведення та штучне осіменіння великої рогатої худоби: Респ. міжв. тематичний наук. зб. – К.: Урожай, 1978. – Вип. 10. – С. 37-39.
3. *Коростелева Н. И., Плешаков В. А.* Биологические показатели глубоководнозамороженной спермы разного срока хранения быков черно-пестрой породы / Н. И. Коростелева, В. А. Плешаков // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – Барнаул. - № 2. – 2003. – С. 238-241.
4. *Кругляк А. П.* Перспективы научных исследований в биологии размножения и искусственного осеменения сельскохозяйственных животных / А. П. Кругляк // Розведення та штучне осіменіння великої рогатої худоби: Респ. міжв. тематичний наук. зб. – К.: Урожай, 1992. – Вип. 24. – С. 38-41.
5. *Кругляк А. П.* Якість замороженої сперми, що зберігалася понад 40 років / А. П. Кругляк // Розведення і генетика тварин: Міжв. тематичний наук. зб. – К.: Аграрна наука, 2001. – Вип. 34. – С. 66-67.

6. 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.
7. *Осташко Ф.И.* Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей / Ф.И. Осташко / - К.: «Урожай», 1978. – 256 с.
8. *Плохинский Н. А.* Руководство по биометрии для зоотехников. – М.: Колос. 1969. – 256 с.
9. *Смирнов І. В.* Стан і перспективи тривалого зберігання сперми / І. В. Смирнов // Розведення та штучне осіменіння великої рогатої худоби: Респ. міжв. тематичний наук. зб. – К.: Урожай, 1978. – Вип. 10. – С. 33-37.
10. *Dinnyes A.* Novel gamete storage / A. Dinnyes, J. Liu, T. L. Nedambale // Reproduction, Fertility and Development, - 2007, - № 19, - P. 719-731. www.publish.csiro.au/journals/rfd.

Проведено исследование показателей подвижности, динамических характеристик движения и выживаемости размороженных сперматозоидов быков редких и исчезающих пород в зависимости от сроков хранения. Установлено, что динамические характеристики движения сперматозоидов взаимосвязаны с показателями подвижности и выживаемости и могут служить дополнительными показателями при оценке качества спермы. Определены показатели прямолинейно-поступательного движения и абсолютного показателя выживаемости сперматозоидов быков Банка генетических ресурсов при различных сроках хранения.

The study on the motility, dynamic characteristics of movement and survival of frozen-thawed spermatozoa of bulls of rare and endangered species depending on storage terms has been carried out. It was shown that the dynamic characteristics of spermatozoid movement were interrelated with the motility indices and survival and could serve as additional parameters for assessment of sperm quality. The characteristics of translational motion and absolute survival of bull spermatozoa from the Bank of Genetic Resources after different periods of storage were determined.