

РЕЗУЛЬТАТИ ОСІМЕНІННЯ ВІВЦЕМАТОК ТАВРІЙСЬКОГО ТИПУ АСКАНІЙСЬКОЇ ТОНКОРУННОЇ ПОРОДИ СПЕРМОЮ, КРІОКОНСЕРВОВАНОЮ ЗА РІЗНИМИ ТЕХНОЛОГІЯМИ

Ю.І. Болотов, Н.О. Корінець

Інститут тваринництва степових районів ім. М.Ф. Іванова "Асканія-Нова" -Національний науковий селекційно-генетичний центр з вівчарства

Вивчено запліднювальну здатність нативної і кріоконсервованої за різними технологіями сперми баранів-плідників. Встановлено, що результативність осіменіння вівцематок цервікальним способом була вищою при використанні сперми, замороженої у пайстах, порівняно із застосуванням відкритих гранул.

Ключові слова: барани-плідники, сперма, кріоконсервація, запліднювальна здатність.

У зв'язку зі зростанням продуктивності овець зростають і вимоги до показників спермопродукції баранів, що зменшує кількість придатних плідників. Крім того, об'єм сперми, отриманий від однієї тварини у статевий сезон, досить малий. Тому для найбільш повного використання генетичного потенціалу баранів необхідно одержувати від них спермопродукцію протягом всього року (за винятком літнього періоду, коли її якість дуже низька через дію несприятливих кліматичних факторів) зі зберіганням до моменту використання. Як показали чисельні дослідження, це можливо здійснити при кріоконсервації сперми до наднизьких температур (менше -90 °С). Багатьма дослідниками була розроблена технологія охолодження сперми спочатку до температури сухого льоду, а згодом і до температури рідкого азоту. При цьому основну увагу зосередили на збереженні життєздатності якомога більшої кількості клітин.

Проте, при штучному осіменінні головним параметром виступає виживаність спермій, яка характеризується тривалістю часу, протягом якого гамети зберігають свою активність і запліднювальну здатність. При використанні традиційної технології глибокого заморожування виживаність спермій становить 5-6 годин проти 18-22 для свіжоотриманої сперми. Як відомо, статева охота в овець продовжується 18-24 години, а овуляція відбувається у її кінці. Тому при осіменінні вівцематок заморожено-відталою спермою на початку

охоти наявність живих сперміїв у рогах матки на момент виходу яйцеклітин катастрофічно зменшується. Відповідно зменшується й імовірність запліднення тварини.

Як свідчать дані багатьох дослідників, результативність осіменіння овець заморожено-відталою спермою баранів залежить від технології кріоконсервації сперми, складу розбавлювача, зокрема, концентрації гліцерину у ньому, способу осіменіння вівцематок та інших факторів. Наприклад, запліднювальна здатність сперми, кріоконсервованої у пайетах, при лапароскопічному осіменінні овець коливалася у досить широких межах - від 51,1 до 67,3% і залежала від методики заморожування [1]. В іншому досліді цей показник становив 66,7% [2]. Запліднювальна здатність сперми залежала також від індивідуальних особливостей баранів - 45,7-73,8% [8]. Останнє спостерігали і при цервікальному методі осіменіння - запліднювальна здатність заморожено-відталої сперми була у межах від 21,8 до 37,6% [7]. Проте у дослідженні, проведеному на вівцях породи коридель в умовах пасовищного екстенсивного утримання в Уругваї, рівень запліднювальної здатності сперми баранів при цервікальному осіменінні овець становив лише 27,2-28,4% [4]. Подібні цифри наводять інші вчені [6]. Ці дані корелюють із результатами досліді, у якому порівнювалися ефективність лапароскопічного і цервікального методу осіменіння овець заморожено-відталою спермою. При цьому запліднювальна здатність останньої становила відповідно 69 і 42% [5]. Цей показник при інтрацервікальному осіменінні залежить від розбавлювача і змінюється від 42,9 до 52,4% [3]. В іншому дослідженні запліднювальна здатність сперми, замороженої у закритих гранулах, складала 77,6%, а у сперми, замороженої у пайетах, залежала від способу розморожування. При температурі відтавання 70 °С (5 секунд), 50 °С (9 секунд) і 35 °С (12 секунд) запліднювальна здатність сперми баранів у пайетах при цервікальному осіменінні вівцематок становила 66,1, 71,4 і 68,9% відповідно [9]. При цьому даний показник залежав також від віку вівцематок і ферми, на якій утримувалися.

Аналізуючи результати, отримані рядом дослідників, можна зробити висновок, що ефективність використання кріоконсервованої сперми баранів для осіменіння вівцематок залежить від багатьох факторів і потребує подальшого вивчення. Тому метою наших досліджень було з'ясувати, як впливає технологія кріоконсервації сперми баранів-плідників на її запліднювальну здатність в умовах півдня України.

Матеріал і методика досліджень. Дослідження проведені в осінній парувальний період (вересень-жовтень) 2006 року в умовах пункту штучного осіменіння дослідного господарства "Асканія-Нова" та лабораторії біології відтворення сільськогосподарських тварин Інституту "Асканія-Нова" на вівцематках та баранах таврійського типу асканійської тонкорунної породи.

Перед осіменінням у нативній спермі вивчали: об'єм еякуляту (мл), рухливість сперміїв (бали), концентрацію статевих клітин (млрд./мл), загальну кількість та кількість рухливих сперміїв в еякуляті (млрд.), кількість патологічних форм сперміїв і їх виживаність.

Сперму для кріоконсервації від баранів отримували дуплетними садками двічі на тиждень. Кожен еякулят, який мав об'єм понад 0,7 мл, активність сперміїв 8-10 балів і концентрацію сперміїв не нижче 2,5 млрд./мл, розбавляли у три рази (1:2). Для розбавлення нативної сперми використовували гліцериново-жовтковий розбавлювач.

Кріоконсервацію сперми здійснювали за двома технологіями: у відкритих гранулах об'ємом 0,2 мл і пайєтах такого ж об'єму. Для заморожування у відкритих гранулах сперму після розбавлення потупово охолоджували, витримуючи при температурі 0+3°C протягом 4-х годин, потім заморожували шляхом накапування в лунки фторопластової пластини, яку попередньо охолоджували до -80-85 °C. Для заморожування в пайєтах розбавлену сперму фасували по 0,2 мл у пайєти, 4 години витримували при температурі 0+3°C і заморожували у парах рідкого азоту при -85-90 °C.

Відтавання сперми в гранулах проводили шляхом занурення однієї гранули в ампулу з 1 мл 2,9%-ного розчину цитрату натрію, яку переносили у водяну баню з температурою +60 °C. Відтавання продовжували до фази льодового стрижня. Сперму в пайєтах відтавали способом занурення у водяну баню на 12-13 секунд при тій же температурі. У розмороженій спермі визначали активність сперміїв, яка має бути не нижчою за 4 бали.

Осіменіння вівцематок нативною спермою проводили один раз на день вранці, а заморожено-відталою - двічі на день (вранці і увечері). Застосовували цервікальний метод осіменіння.

Результати досліджень. За результатами окоту 2007 року показник запліднення після осіменіння вівцематок нативною спермою становив 72,92% при багатоплідності 134,29% (табл. 1). За статевою ознакою 44,68% народжених ягнят склали ярочки і 55,32% - баранці.

Показник запліднення після осіменіння спермою, замороженою у відкритих гранулах, становив 52,08% при багатоплідності 152,00%. Серед ягнят було 65,79% ярочок і 34,21% - баранців.

Показник запліднення після осіменіння спермою, замороженою у пайєтах, становив 64,58% при багатоплідності 151,61%. З приплоду 53,19% ягнят були ярочками і 46,81% - баранцями.

Отже, одержані нами дані свідчать, що результативність осіменіння вівцематок заморожено-відталою спермою баранів-плідників була нижчою, ніж при використанні нативної сперми. Зокрема, показники запліднення після осіменіння спермою, замороженою у відкритих гранулах і пайєтах, були меншими на 20,84 і 8,34%, ніж після осіменіння нативною спермою. Проте, багатоплідність після осіменіння відталою спермою, навпаки, була на 17,71% і 17,32% відповідно більшою, ніж після використання нативної

сперми баранів. Слід відзначити, що після осіменіння вівцематок відталою спермою, серед ягнят переважну більшість склали ярочки. Особливо помітно це було після осіменіння вівцематок спермою, замороженою у відкритих гранулах. У той же час після осіменіння вівцематок нативною спермою співвідношення статі народжених ягнят було на користь баранців. Вірогідно, це пояснюється більшою виживаністю спермій із Х-хромосомою.

Таблиця 1. Результати окоту вівцематок, осіменених нативною і заморожено-відталою за різними технологіями спермою баранів-плідників

Сперма	Осіменено вівцематок, гол.	Окотилося вівцематок, гол.	Отримано ягнят, гол.		
			ВСЬ О-ГО	ярочок	баранців
Нативна	48	35	47	21	26
Заморожена у відкритих гранулах	48	25	38	25	13
Заморожена у пайєтах	48	31	47	25	22

Порівнюючи результати осіменіння вівцематок спермою, замороженою у відкритих гранулах і у пайєтах, помітна перевага використання останніх. Так, показник запліднення був більшим на 12,50%, що навіть при однаковій багатоплідності дозволило одержати на 19,15% більше ягнят, ніж після осіменіння овець спермою, замороженою у відкритих гранулах.

У дослідженнях, проведених нами у 2001 році, було показано, що рівень мікробної контамінації при заморожуванні сперми у пайєтах і в облицьованих гранулах зменшується порівняно з даним показником у відкритих гранулах. Тож можна припустити, що при використанні пайєт зародки зазнають меншого згубного впливу мікроорганізмів і їх виживаність збільшується.

Висновки. Дослідженнями встановлено, що барани-плідники таврійського типу асканійської тонкорунної породи в умовах півдня України мають достатньо високу запліднювальну здатність як нативною, так і заморожено-відталою сперми. При цьому даний показник сперми, замороженої у пайєтах, був вищим, ніж у відкритих гранулах. Тому, з метою ефективного використання племінних баранів у племпідприємствах, племфермах і племзаводах, ми рекомендуємо заморожувати сперму у пайєтах або відкритих

гранулах для подальшого застосування її при штучному осіменінні вівцематок.

Список використаної літератури

1. Anel L., de Paz P., Álvarez M., Chamorro C. A., Boixo J. C., Manso A., González M., Kaabi M., Anel E. Field and in vitro assay of three methods for freezing ram semen // *Theriogenology*. - 2003. - Vol. 60, №7. - P. 1293-1308.
2. Berlinguer F., Leoni G. G., Bogliolo L., Bebbere D., Succu S., Rosati I., Ledda S., Naitana S. In vivo and in vitro fertilizing capacity of cryopreserved European mouflon [*Ovis gmelini musimon*] spermatozoa used to restore genetically rare and isolated populations // *Theriogenology*. - 2005. - Vol. 63, №3. - P. 902-911.
3. Dorado J., Rodríguez I., Hidalgo M. Cryopreservation of goat spermatozoa: Comparison of two freezing extenders based on post-thaw sperm quality and fertility rates after artificial insemination // *Theriogenology*. - 2007. - Vol. 68, №2. - P. 168-177.
4. Gil J., Rodríguez-Irazaqui M., Lundeheim N., Söderquist L., Rodríguez-Martínez H. Fertility of ram semen frozen in Bioexcell® and used for cervical artificial insemination // *Theriogenology*. - 2003. - Vol. 59, №5-6. - P. 1157-1170.
5. King M.E., W. A. C. McKelvey, W. S. Dingwall, Matthews K. P., Gebbie F. E., Mylne M. J. A., Stewart E., Robinson J. J. Lambing rates and litter sizes following intrauterine or cervical insemination of frozen/thawed semen with or without oxytocin administration // *Theriogenology*. - 2004. - Vol. 62, №7. - P. 1236-1244.
6. O'Meara C. M., Donovan A., Hanrahan J. P., Duffy P., Fair S., Evans A. C. O., Lonergan P. Resuspending ram spermatozoa in seminal plasma after cryopreservation does not improve pregnancy rate in cervically inseminated ewes // *Theriogenology*. - 2007. - Vol. 67, №7. - P. 1262-1268.
7. O'Meara C. M., Hanrahan J. P., Donovan A., Fair S., Rizos D., Wade M., Boland M. P., Evans A. C. O., Lonergan P. Relationship between in vitro fertilisation of ewe oocytes and the fertility of ewes following cervical artificial insemination with frozen-thawed ram semen // *Theriogenology* - 2005. - Vol. 64, №8. - P. 1797-1808.
8. Papadopoulos S., Hanrahan J. P., Donovan A., Duffy P., Boland M. P., Lonergan P. In vitro fertilization as a predictor of fertility from cervical insemination of sheep // *Theriogenology*. - 2005. - Vol. 63, №1. - P. 150-159.
9. Paulenz H., Soderquist L., Ådnøy T., Nordstoga A., Gulbrandsen B., Berg K. A. Fertility results after different thawing procedures for ram semen frozen in minitubes and mini straws // *Theriogenology*. - 2004. - Vol. 61, №9. - P. 1719-1727.

УДК 636.32/38:636.082.451