

УДК 636. 4. 082 453.5

**ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ РАЗБАВЛЕНИЯ СПЕРМЫ
БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ В РАЗЛИЧНЫХ СРЕДАХ
НА ЕЕ КАЧЕСТВО**

**Бугров А.Д., д. б. н., профессор,
Буланова Н.В., аспирантка,
Савельева М.С., к. с.-х. н.**

Институт животноводства НААН, г. Харьков

Аннотация. *Статья посвящена исследованию влияния степени разбавления спермы быков-производителей на ее качественные показатели. Установлено закономерное достоверное снижение выживаемости и абсолютного показателя живучести спермиев с увеличением степени разбавления спермы. Наличие в разбавленной сперме 50,0 % инактивированных спермиев при тех же степенях разбавления снижает в два – четыре раза выживаемость спермиев.*

Ключевые слова: *динамика показателей, инактивированные спермии, степень разбавления, сперма, быки.*

Актуальность проблемы. За последние годы наблюдается общая тенденция увеличения генетического потенциала быков-производителей за счет использования криоконсервированной спермы от них [1]. При этом количество полноценных спермиев значительно уменьшается (до 1,0 – 2,0 млн.) за счет большого разведения [1, 2]. Проводились отдельные опыты на коровах и телках по изучению оплодотворяющей способности 1,5 млн. подвижных спермиев в дозе [3]. Известны работы о влиянии мертвых спермиев на живые и их переживаемость при температуре тела [4]. Однако данных о переживаемости и живучести спермиев быков от степени их разбавления, а также наличия 50,0 % мертвых клеток, не встречали. В связи с изложенным была поставлена задача провести исследования влияния степени разбавления спермы быков-производителей и мертвых спермиев, при тех же разбавлениях, в различных средах на ее качество.

Целью исследований было изучить зависимость выживаемости спермы быков в часах и абсолютного показателя живучести ее от степени разбавления в различных средах.

Материал и методы исследований. Исследования проведены в отделе биотехнологии репродукции с.-х. животных: лабораториях искусственного осеменения и трансплантологии Института животноводства НААН.

Сперму получали на искусственную вагину от быков-производителей украинской красно-пестрой породы по Харьковской технологии [5, 6]. Определяли активность, концентрацию спермиев (млрд./мл).

Нативную сперму разбавляли второй средой по Харьковской технологии и 2,9% раствором трехзамещенного пятиводного цитрата натрия до содержания в дозе: 10,0 – 7,5 - 5,0 - 2,0 – 1,0 – 0,5 – 0,25 млн. спермиев с прямолинейно-поступательным движением в объеме 0,25 мл., и проверяли подвижность при температуре 38°C. Меченые пробы ставили в термостат с температурой 38°C и определяли подвижность спермиев через каждый час до полной их гибели. Показатели заносили в журнал и рассчитывали переживаемость (в часах) и абсолютный показатель переживаемости (в условных единицах) спермиев по стандартной формуле.

Для изучения механизма влияния мертвых спермиев на живучесть спермы проводили их инактивацию на водяной бане при температуре 100°C с последующим добавлением к нативной сперме в объеме 50,0%. (по А.Д. Бугрову, С.А. Сидашовой, 1992 г.[3]).

Исследования были проведены на 10 разделенных эякулятах. Результаты обработаны методом статистического анализа.

Результаты исследований представлены в таблице 1. Анализ таблицы показывает, что при разбавлении спермы Харьковской средой из расчета 10,0 млн. спермиев в дозе переживаемость составила 9,44 часа; 7,5 млн. – 8,67; 5,0 – 7,89; 2,0 – 6,56; 1,0 – 5,11; 0,5 – 4,0; 0,25 – 3,44. Следовательно с увеличением степени разбавления, наблюдается достоверное закономерное снижение переживаемости спермиев.

Из этой же таблицы видно, что при разбавлении спермы 2,9 % раствором трехзамещенного пятиводного цитрата натрия из расчета 10 млн. спермиев в дозе переживаемость составила 9,44 часа; 7,5 млн. – 8,67; 5,0 – 7,44; 2,0 – 5,89; 1,0 – 4,67; 0,5 – 3,0; 0,25 – 2,78 наблюдается аналогичная закономерность снижения переживаемости спермиев с увеличением степени разбавления.

Сравнивая показатели переживаемости спермиев в часах после разбавления Харьковской средой и 2,9% раствором цитрата натрия не установлено достоверной разницы при разбавлении до 10,0 – 7,5 – 5,0 млн. подвижных спермиев. А после разбавления до 2,0 – 1,0 – 0,5 – 0,25 млн. отмечается тенденция.

Из данных таблицы видно, что при разбавлении спермы Харьковской средой из расчета 10 млн. спермиев в дозе абсолютный показатель переживаемости составил 40,22 у.е.; 7,5 млн. – 33,17; 5,0 – 26,89; 2,0 – 21,89; 1,0 – 15,17; 0,5 – 10,67; 0,25 – 7,83. Показано с увеличением степени разбавления, в указанных пределах, наблюдается достоверное закономерное снижение абсолютного показателя выживаемости спермиев.

Таблица 1
Влияние степени разбавления спермы быков-производителей на ее качество в Харьковской среде и 2,9% растворе цитрата натрия (n = 10)

Концентрация спермиев млн/дозе	Среды									
	Харьковская					2,9% р-р цитрата натрия				
	Пережки (час)	Sa (y.e.)	+50% инакт-ых		Пережки (час)	Sa (y.e.)	Пережки (час)	Sa (y.e.)	+50% инакт-ых	
Переж-ть (час)			Sa (y.e.)	Переж-ть (час)					Sa (y.e.)	
10,0 (К)	9,4±0,26	40,22±1,86	4,7±0,56	10,11±1,72	9,4±0,31	36,89±3,20	4,2±0,34	8,50±1,25		
7,5	8,7±0,47	33,17±1,84*	4,6±0,44	9,39±1,53	8,7±0,50	30,89±2,39	4,0±0,50	7,72±1,28		
5,0	7,9±0,45**	26,89±2,06***	4,1±0,54	7,61±0,81	7,4±0,59**	22,72±1,68**	3,7±0,25	6,11±0,74		
2,0	6,6±0,19***	21,89±1,82***	3,8±0,24	5,06±0,41*	5,9±0,33***	17,11±1,57**	3,0±0,25*	4,22±0,58**		
1,0	5,1±0,48***	15,17±0,97***	3,4±0,19	4,61±0,23**	4,7±0,79***	10,28±1,25**	2,7±0,25**	3,94±0,11**		
0,5	4,0±0,39***	10,67±1,12***	2,67±0,18**	3,61±0,19**	3,0±0,31***	7,22±0,80***	1,89±0,21***	3,06±0,27***		
0,25	3,4±0,31***	7,83±0,76***	1,67±0,25***	2,82±0,22***	2,78±0,34***	4,56±0,52***	1,33±0,18***	2,33±0,15***		

Примечание: *(P>0,90); ** (P>0,99); *** (P>0,999)

В этой же таблице показано, что после разбавления спермы 2,9 % раствором цитрата натрия из расчета 10,0 млн. спермиев в дозе абсолютный показатель выживаемости составил 36,89 у.е.; 7,5 млн. – 30,89; 5,0 – 22,72; 2,0 – 17,11; 1,0 – 10,28; 0,5 – 7,22; 0,25 – 4,56. наблюдается аналогичная закономерность снижения абсолютного показателя выживаемости спермиев с увеличением степени разбавления.

Сравнивая абсолютные показатели выживаемости спермиев в приведенных выше средах не установлено достоверной разницы при разбавлении до 10,0 и 7,5 млн.спермиев. После разбавления до 5,0 – 2,0 млн. отмечается тенденция. В последующих разведениях до 1,0 – 0,5 – 0,25 млн. наблюдается существенное различие в пользу Харьковской среды.

Таким образом, можно сделать обобщение, что в процессе увеличения степени разбавления спермы повышается проницаемость цитоплазматических мембран спермиев снижая их переживаемость.

В следующей серии опытов была использована та же сперма с наличием в ней вдвое меньше подвижных спермиев в каждой дозе после добавления 50% инактивированных клеток.

После разбавления спермы Харьковской средой в первой пробе осталось 5,0 млн живых и 5,0 млн мертвых(из расчета 10 млн. спермиев в дозе) переживаемость составила 4,67 часа; во второй пробе соответственно 3,75 млн. – 4,56; в третьей 2,5 – 4,11; в четвертой 1,0 – 3,78; в пятой 0,5 – 3,44; в шестой 0,25 – 2,67; в седьмой 0,175 – 1,67. Как видно из приведенных данных, после добавления 50,0 % инактивированных клеток наблюдается закономерное снижения показателя выживаемости спермиев., однако этот показатель был в два раза ниже, чем у нативной спермы.

Такая же закономерность снижения переживаемости в часах после добавления 50,0 % инактивированных спермиев, при разбавлении спермы 2,9 % раствором цитрата натрия из расчета 10 млн. спермиев в дозе переживаемость составила 4,22 часа; 7,5 млн. – 4,00; 5,0 – 3,67; 2,0 – 3,00; 1,0 – 2,67; 0,5 – 1,89; 0,25 – 1,33.

Исходя из приведенных данных следует заключить, что показатели выживаемости спермы с наличием 50,0 % инактивированных клеток в часах в цитратном разбавителе ниже в сравнении с Харьковской средой. Сравнивая показатели переживаемости спермиев в часах после разбавления Харьковской средой и 2,9 % раствором цитрата натрия не установлено достоверной разницы при разбавлении до 10,0 – 7,5 – 5,0 млн. подвижных спермиев. А после разбавления до 2,0 – 1,0 – 0,5 – 0,25 млн. отмечается тенденция

После разбавления спермы Харьковской средой с наличием 50,0 % инактивированных келеток в первой пробе осталось 5,0 млн живых и 5,0 млн мертвых абсолютный показатель выживаемости составил 10,11 у.е.;

3,75 млн. – 9,39; 2,5 – 7,61; 1,0 – 5,06; 0,5 – 4,61; 0,25 – 3,61; 0,175 – 2,82 наблюдается такая же закономерность снижения абсолютного показателя выживаемости спермиев как и без их добавления, однако этот показатель в три-четыре раза ниже, чем у нативной спермы.

Из этой же таблицы видно, что после разбавлении спермы 2,9 % раствором цитрата натрия из расчета 10,0 млн. спермиев в дозе абсолютный показатель живучести составил 8,50 у.е.; 7,5 млн. – 7,72; 5,0 – 6,11; 2,0 – 4,22; 1,0 – 3,94; 0,5 – 3,06; 0,25 – 2,33. наблюдается аналогичная закономерность снижения абсолютного показателя живучести спермиев с увеличением степени разбавления, как и в сперме без добавления 50,0 % инактивированных клеток.

Исходя из приведенных данных по этому показателю следует заключить, что абсолютный показатель живучести спермы с наличием 50,0% инактивированных клеток в цитратном разбавителе ниже в сравнении с Харьковской средой. Можно полагать, что на жизнеспособность спермиев влияет не только увеличение проницаемости мембран спермиев, но и воздействие мертвых спермиев. Можно предполагать, что одна из причин низкой выживаемости спермиев после добавления мертвых клеток – переход из них в активном состоянии ферментов и радикалов, что приводит к сокращению живучести оставшихся спермиев. Использование в разбавителях при разбавлении спермы определенных веществ снижающих негативное влияние процесса разбавления на живые спермии, одна из первоочередных задач в совершенствовании сред для хранения и криоконсервации спермы производителей.

Выводы

1. Установлено, что с увеличением степени разбавления нативной спермы быков в различных разбавителях наблюдается закономерное достоверное снижение подвижности и живучести спермиев.

2. Наличие в разбавленной сперме 50,0 % мертвых клеток при тех же степенях разбавления снижает в два-четыре раза переживаемость и живучесть спермиев.

3. Уровень снижения живучести спермиев зависит от состава сред и наличия мертвых спермиев.

4. Можно полагать, что причинами низкой живучести спермиев после разбавления эякулята является нарушение целостности мембран спермиев и негативное влияние перехода активных ферментных систем и радикалов из мертвых клеток в среду.

Литература

1. Бугров А.Д. Криоповреждения и криозащита спермиев быков при глубоком замораживании. Монография. – Х.: Институт животноводства НААНУ, 2010. – 317 с.

2. Бугров А.Д., Сидашова С.А. Рациональное использование замороженной спермы быков // Проблема селекционно-племенной работы в животноводстве: тезисы докл. Всес. Науч.-техн. Совещания. – М., 1990. – С.114 – 115.

3. Сидашова С.А. Рациональное использование замороженной спермы быков-производителей: дис. канд. с.-х. наук: 06.02.01 / Сидашова Светлана Александровна. – Х., 1992. – 136 с.

4. Бугров А.Д., Сидашова С.А. Влияние мертвых половых клеток на качество спермы быков и хряков. Зоотехния. – 1991. - № 12. – С.50 – 53.

5. Осташко Ф.И. Харьковская технология получения, криоконсервации и использования спермы производителей. Физиология воспроизведения животных: Материалы советско-американского семинара / НИИЖ Лесостепи и Полесья УССР. – Х., 1977. – С. 121-125.

6. Харьковская технология асептического взятия и криоконсервации спермы быков-производителей : [Методические рекомендации]; Под ред. Ф.И. Осташко. – Научно-производственная система «ЭМБРИОН». – Х., 1990. – 73 с.

ВПЛИВ СТУПЕНЯ РОЗРІДЖЕННЯ СПЕРМИ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ У РІЗНИХ СЕРЕДОВИЩАХ НА ЇЇ ЯКІСТЬ

Бугров О.Д., д. б. н., професор,

Буланова Н.В., аспірантка,

Савельєва М.С. к. с.-г. н.

Інститут тваринництва НААН, м. Харків

Анотація. Стаття присвячена дослідженню впливу ступеня розрідження сперми бугаїв-плідників у різних середовищах на її якісні показники. Встановлено закономірне достовірне зниження виживаності й абсолютного показника виживаності спермійів зі збільшенням ступеня розрідження сперми. Наявність у розрідженій спермі 50,0% інактивованих спермійів при тих же ступенях розрідження знижує у два – чотири рази їх виживаність.

Ключові слова: динаміка показників, інактивовані спермії, ступінь розрідження, середовища, сперма, бугаї.

INFLUENCE OF DEGREE OF BOVINE SPERM DILUTION
IN DIFFERENT MEDIA ON ITS QUALITY

Bugrov A.D., professor, doctor of biological science,

Bulanova N.V., graduate student,

Savelieva M.S., candidate of agricultural science.

Institute of Animal Science of the National Academy of Agrarian
Sciences of Ukraine

Summary. The article investigates the influence of the degree of bovine semen dilution in different media on its qualitative indices. The appropriate trustworthy decline of survivability and absolute index of survivability of sperm at the increase in the degree of semen dilution has been established. The presence of 50,0 % inactivated sperm in the diluted semen at the same degrees of dilution reduces the survivability of semen by 2 – 4 times.

Key words: dynamics of indices inactivated sperm, degree of dilution, medium, semen, bovine.
