

**В. М. КУШНІР**, кандидат біологічних наук  
Інститут розведення і генетики тварин УААН

## **ВПЛИВ ОТОЧУЮЧОГО СПЕРМІЇ СЕРЕДОВИЩА НА ЯКІСНІ ПОКАЗНИКИ РОЗМОРОЖЕНОЇ СПЕРМИ БУГАЇВ**

*Існуючими технологіями кріоконсервації сперми не передбачено врахування складу оточуючого спермії середовища, що утворюється після розрідження еякулятів. Це призвело до того, що при заморожуванні крапих за рухливістю і концентрацією спермій еякулятів одержують заморожену сперму нижчої якості. У проведених дослідженнях цей фактор було усунуто і одержано розморожену сперму бугаїв-плідників, яка характеризувалася вищими якісними показниками порівняно з її обробкою за інструкцією.*

Сучасні технології кріоконсервації сперми плідників тварин потребують удосконалення. За даними А. П. Кругляка (1986), на багатьох племпідприємствах понад 70 % замороженої у відкритих гранулах сперми не відповідає за якістю мінімальним вимогам діючої інструкції. Від використання такої сперми господарства зазнають значних збитків із-за перегулів корів. Крім цього, знижуються темпи селекційно-племінної роботи, менш інтенсивно використовуються бугаї-плідники, їх неправильно оцінюють за власною продуктивністю.

Відомі дані, що якість розмороженої в облицьованих гранулах сперми нижча, ніж у відкритих (Мунтаниолов Н. И. и Николаев В. В., 1982).

П. І. Пакенас (1987) відзначає, що активність спермій в облицьованих гранулах на 10—15 % нижча, ніж у соломінках, а після осіменіння маток в оболонці гранули залишаються близько 25 % спермій. За деякими даними (Голубков Л. Т., 1988), різниця рухливості в різних облицьованих гранулах одного еякуляту досягає майже 2 бали.

Із спеціальної літератури відомо, що з часу переведення племпідприємств на підвищені кратності розрідження еякулятів, відповідно до інструкції 1981 р., різко знизилась якість замороженої сперми (Ковалев М. Г. и др., 1985). На аналогічний факт ще раніше вказував Н. Г. Балашов (1981). Він стверджував, що для лактозо-гліцериново-жовткового (ЛГЖ) розріджувача характерний яскраво виражений оптимум розрідження сперми — 3—5 разів і невеликий інтервал допустимого розрідження — від 2 до 11 разів.

У племпідприємствах цього інтервалу не дотримують. Залежно від об'єму дози кількості в ній спермій з прямолінійно-поступальним рухом сперму розріджують у 20—30 разів і більше.

Виходячи з цього, виникла необхідність визначити причини зниження якості замороженої сперми у соломінках, відкритих та облицьованих гранулах і досягти підвищення її якості.

**Методика досліджень.** Свіжоодержані еякуляти після оцінки розділяли на три частини й розріджували в 2, 3, 4, 8, 16 і 32 рази лактозо-гліцериново-жовтковим розріджувачем (ЛГЖ), лактозо-фруктозо-рафінозо-магнієво-гліцериново-жовтковим (ЛФРМГЖ) та розріджувачами № 1 і № 2, які використовують для заморожування сперми в облицьованих гранулах. Рецепти розріджувачів наведено в діючій інструкції.

Розріджену сперму ставили на інкубацію у водяний термостат при 38 °С. Через кожну годину визначали рухливість спермій і на основі цих показників підраховували виживаність у годинах і абсолютний показник виживаності (табл. 1).

### 1. Біоконтроль сперми бугаїв у різних розріджувачах (n=8)

Показник	Кратність розрідження сперми					
	2	3	4	8	16	32
<i>ЛГЖ (гранули)</i>						
Рухливість, балів	8,0	8,0	8,0	8,0	7,8	7,6
Вживаність, год	11,2	13,5	12,0	10,9	10,2	8,4
Абсолютний показник виживаності, ум. од.	53,0	60,7	54,8	47,0	42,0	35,7
<i>ЛФРМГЖ (соломинки)</i>						
Рухливість, балів	8,0	8,0	8,0	8,0	7,8	7,6
Вживаність, год	14,1	12,1	11,1	10,0	9,1	8,0
Абсолютний показник виживаності, ум. од.	62,2	54,9	50,0	45,2	40,0	35,4
<i>№ 1 і № 2 (облицьовані гранули)</i>						
Рухливість, балів	7,8	7,8	7,7	7,7	7,6	7,5
Вживаність, год	12,5	11,6	11,0	10,0	8,5	7,6
Абсолютний показник виживаності, ум. од.	56,2	53,3	48,2	43,3	37,7	31,0

У другому досліді сперму розріджували відповідно до інструкції в 2, 3, 8 і 32 рази й заморожували в облицьованих гранулах. Через 24 год її розморожували, ставили на інкубацію при 38 °С і оцінювали за рухливістю, виживаністю у годинах і за абсолютним показником виживаності (табл. 2).

У третьому досліді із спермосховища відібрали будь-які 12 еякулятів бугаїв-плідників. Виявилось, що п'ять еякулятів мали концентрацію 0,7—0,8 млрд./мл (розрідження 4,7—5,3 раза), а останні — від 1,3 до 2,0 млрд./мл (кратність розрідження 8,7—13,3 раза). Після розморожування їх ставили на біоконтроль при 38 °С (табл. 3).

У наступному досліді більш детально вивчали вплив оточуючого спермії середовища при розрідженні сперми ЛГЖ, оскільки цей розріджувач використовують на племідприємствах при криоконсервації сперми у відкритих гранулах і соломинках. Сперму заморожували у відкритих гранулах. Як і в попередніх дослідях, одержали аналогічні результати (табл. 4).

За результатами таблиць 1, 2, 3, 4, на якість розмороженої сперми значно

### 2. Якісні показники розмороженої сперми в облицьованих гранулах залежно від кратності розрідження еякулятів (n=5)

Кратність розрідження еякулятів	Показники якості сперми		
	рухливість, балів	вживаність, год	абсолютний показник виживаності, ум. од.
2	4,2	5	16,2
3	4,1	4,2	13,0
	3,2	3	8,3
	2,4	2	4,6

**3. Якісні показники розмороженої в облицьованих гранулах сперми бугаїв-плідників залежно від концентрації сперміїв в еякуляті (n=12)**

Концентрація сперміїв, млрд/мл	Показники якості		
	рухливість, балів	виживаність, год	абсолютний показник виживаності, ум. од.
0,7—0,8	4,0	4,4	12,3
1,3—2,0	3,8	3,1	9,2

впливає оточуюче клітини середовище. Воно виявилось кращим при дво-трикратних розрідженнях.

На практиці сперму в 2—3 рази не розріджують. При величині спермодози 0,20—0,25 мл допустима мінімальна кратність розрідження еякулятів становить відповідно 3,6—5,1 раза (концентрація сперміїв в еякуляті — 0,7 млрд./мл, рухливість — 8 балів).

**4. Показники якості сперми бугаїв залежно від концентрації речовин в оточуючому середовищі**

Показники	Кратність розрідження сперми						
	2	3	4	8	16	32	64

*Розбавлена сперма*

Рухливість, балів	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9	7,8
Виживаність, год	12,0	12,0	11,4	10,4	9,9	9,4	8,6
АПВ*, ум. од.	61,0	60,7	57,3	52,8	47,7	43,9	38,7

*Розморожена сперма*

Рухливість, балів	4,0	4,1	4,0	4,0	4,0	4,0	3,7
Виживаність, год	4,5	5,1	5,1	4,7	4,1	3,5	3,2
АПВ, ум. од.	12,8	14,4	13,6	11,8	10,5	9,3	8,1

*Концентрація розчинених речовин*

Концентрація всіх розчинених речовин — мг/л	688,9	818,0	882,6	979,6	1028,0	1054,8	1065,7
У тому числі:							
гліцерину	355,2	473,6	532,8	624,3	677,4	688,9	699,7
всіх останніх речовин	333,7	344,4	349,8	355,2	360,6	365,9	366,0
співвідношення між гліцерином та іншими осмотично активними речовинами в розчиненій спермі	1,06	1,37	1,52	1,76	1,85	1,88	1,91

*Кількість компонентів у 100 мл розрідженої сперми*

Гліцерину, мл	1,89	2,52	2,84	3,32	3,55	3,67	3,79
Жовтка, мл	7,57	10,10	11,36	13,26	14,20	14,68	14,91
Спермосану, тис. од.	18,94	25,25	28,41	33,14	35,51	36,70	37,30

\* Абсолютний показник виживаності.

Таким чином, на основі першої серії дослідів встановлено, що оптимальним кратностям розрідження сперми запровадженими у виробництво розріджувачами відповідають еякуляти, які за рухливістю і концентрацією спермій, відповідно до діючої інструкції, не допускаються до обробки. Проте чим кращу за рухливістю і концентрацією сперму одержують від бугаїв-плідників, тим гірша її якість після розморожування.

Використання неякісної сперми призводить до перегулів маточного поголів'я, господарства зазнають великих збитків, на племпідприємствах неправильно оцінюють бугаїв-плідників за запліднювальною здатністю, знижуються темпи поліпшення породних і продуктивних якостей існуючого поголів'я.

Щоб усунути цей фактор, було розроблено і запропоновано метод використання розріджувачів, який став основою для удосконалення існуючих технологій кріоконсервації сперми. Суть нововведення полягає у тому, що для розрідження сперми використовують два розріджувачі певного складу і за рекомендованим методом. З успіхом у комплексі з рекомендованими можна використати розріджувачі, які використовують на практиці (рецепти окремих розріджувачів і спосіб їх використання не розшифровуються у зв'язку з їх патентуванням). Розріджуючи зазначеними розріджувачами різні за рухливістю і концентрацією еякуляти, завжди одержують у дозі необхідну кількість спермій і створюють для їх життєздатності до та після заморожування найбільш оптимальне оточуюче середовище при однаковій сумарній концентрації всіх розчинених речовин, у тому числі кріопротектора і сануючих препаратів.

Оскільки спермії оточує однакове за концентрацією середовище, то для них вдалося підібрати найкращі режими обробки і досягти значно кращих показників замороженої сперми порівняно з її кріоконсервацією за інструкцією. Комісійно на племпідприємствах України, Росії й Узбекистану встановлено, що кріоконсервація сперми у соломінках, відкритих і облицьованих гранулах з урахуванням оточуючого спермії середовища порівняно з її обробкою за інструкцією дає можливість підвищити якісні показники сперми за рухливістю на 7,5—20,0 %, виживаністю при 38 °С на 20,3—53,0 % і за запліднювальною здатністю на 12,6 %. Із заморожених 231 еякуляту за інструкцією і за удосконаленим способом вимогам діючого ГОСТу відповідали відповідно 74 (32,0 %) і 175 (75,7 %).

**Висновки.** Існуючі технології кріоконсервації сперми недосконалі. Чим кращу сперму одержують від бугаїв-плідників, тим гірша її якість після розморожування.

Заморожування сперми з урахуванням оточуючого клітини середовища дає можливість значно підвищити її якісні показники.

*Одержано редколегією 08.04.94.*

*Существующими технологиями кріоконсервации спермы не предусмотрено учитывать состав окружающей спермы среды, которая образуется после разбавления эякулятов. Это привело к тому, что при замораживании лучших эякулятов подвижностью и концентрацией спермиев эякулятов получают замороженную сперму низшего качества. В проведенных опытах этот фактор был устранен и полученная размороженная сперма быков-производителей характеризовалась более высокими качественными показателями в сравнении с ее обработкой по инструкции.*