

agroecological State University. Scientific-theoretical collection. Zhytomyr, 2: 184–191 (in Ukrainian).

4. Basovskiy, N. Z. 1975. *Selektsiya skota po vosproizvoditel'noy sposobnosti - Breeding cattle on reproductive ability*. M.: Rossel'khozizdat, 143 (in Russian).

5. Kiva, M. S. 1980. *Mnogoplodie korov, ego parametry, biologicheskie osobennosti i khozyaystvennoe znachenie - Polycarpous of cows, its parameters, biological characteristics and economic value*. *Puti uvelicheniya proizvodstva i uluchsheniya kachestva produktsii zemledeliya i zhyvotnovodstva - Ways to increase production and improve product quality agriculture and animal husbandry*. Belaya Tserkov', 98–100 (in Russian).

6. Basovs'kyu, M. Z., V. P. Burkat, M. V. Zubets'. 1995. *Pleminna robota: dovidnyk - Breeding work: a guide*. K., Asotsiatsiya «Ukrayina», 430 (in Ukrainian).

7. Plokhinskiy, N. A. 1969. *Rukovodstvo po biometrii dlya zootekhnikov – Guide to Biometrics for zootechnician*. M., Kolos, 256 (in Russian).



УДК 636.2.082

ДИНАМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ РУХУ СПЕРМАТОЗОЇДІВ БУГАЇВ ЗА УМОВ ДОВГОТРИВАЛОГО ЗБЕРІГАННЯ

А. О. ЛЯШЕНКО

Черкаська дослідна станція біоресурсів НААН (Черкаси, Україна)
scientist_andru@ukr.net

Проведено дослідження динамічних характеристик руху деконсервованих сперматозоїдів бугаїв Банку генетичних ресурсів за умов довготривалого зберігання в рідкому азоті. Вивчено морфометричні характеристики сперматозоїдів бугаїв залежно від тривалості зберігання в рідкому азоті. Визначено позитивний кореляційний зв'язок між динамічними характеристиками і довжиною сперматозоїда ($r=0,15$) ($p<0,05$).

За терміну зберігання 40 років у бугаїв спостерігались вірогідно менші розміри сперматозоїдів та знижені динамічні характеристики руху. Встановлено, що за умов довготривалого зберігання сперми, у бугаїв спостерігалася вірогідна міжпородна різниця за динамічними характеристиками і розмірами сперміїв. У бугаїв молочних порід прямолінійна швидкість руху сперматозоїдів була вища на 6,5 % ($p<0,01$), ніж у бугаїв м'ясних порід. Динамічні характеристики руху сперматозоїдів за терміну зберігання 40 років були нижчі в середньому на 9,0 % ($p<0,05$), ніж за терміну зберігання 20 років. Середнє значення прямолінійної швидкості руху – 55,3 мкм/с, а частота коливальних рухів головки сперматозоїда – 26 Гц.

Ключові слова: кріоконсервована сперма, рухливість, прямолінійна швидкість руху, частота коливання головки сперматозоїда, морфометрія, розміри сперматозоїда, довготривале зберігання, порода

THE DYNAMIC CHARACTERISTICS OF MOVEMENT OF BULL SPERMATOZOONS BY LONG-TERM STORAGE

A. A. Lyashenko

Cherkassy experimental station of bioresources NAAS (Cherkasy, Ukraine)
scientist_andru@ukr.net

The dynamic characteristics of movement defrost sperm bulls Bank of genetic resources in long-term storage in liquid nitrogen were studied. The morphometric characteristics of bull sperm depending on the duration of storage in liquid nitrogen were studied. A positive correlation between the dynamic characteristics and the length of the sperm ($r=0,15$) ($p<0,05$) was determined. For the term of storage 40 years in bulls were significantly smaller size of spermatozoon's and reduced dynamic characteristics of movement. Found that during long-term storage of semen, in bulls there was a significant interbreed difference on dynamic characteristics and size of the sperm. In bulls of dairy breeds straight-line velocity of the sperm was higher by 6,5 % ($p<0,01$), than in bulls of beef breeds. The dynamic characteristics of the movement of sperm for term of storage of 40 years were lower by an average of 9,0 % ($p<0,05$), than in the term of storage of 20 years. Mean straight-line velocity - 55.3 $\mu\text{m/s}$, and the oscillation frequency of the sperm head was 26 Hz.

Key words: cryopreserved sperm, motility, straight-line velocity, the oscillation frequency of the sperm head, morphometry, the size of the spermatozoon, long-term storage, breed

ДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДВИЖЕНИЯ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ ПРИ ДОЛГОВРЕМЕННОМ ХРАНЕНИИ

А. А. Ляшенко

Черкасская опытная станция биоресурсов НААН (Черкассы, Украина)

scientist_andru@ukr.net

Проведено исследование динамических характеристик движения размороженных сперматозоидов быков Банка генетических ресурсов, в условиях длительного хранения в жидком азоте. Изучены морфометрические характеристики сперматозоидов быков в зависимости от продолжительности хранения в жидком азоте. Определена положительная корреляционная связь между динамическими характеристиками и длиной сперматозоида ($r = 0,15$) ($p < 0,05$). При сроке хранения 40 лет у быков наблюдались достоверно меньшие размеры сперматозоидов и сниженные динамические характеристики движения. Установлено, что в условиях длительного хранения спермы, у быков наблюдалась достоверная межпородная разница по динамическим характеристикам и размерам спермиев. У быков молочных пород прямолинейная скорость движения сперматозоидов была выше на 6,5 % ($p < 0,01$), чем у быков мясных пород. Динамические характеристики движения сперматозоидов при сроке хранения 40 лет были ниже в среднем на 9,0 % ($p < 0,05$), чем при сроке хранения 20 лет. Среднее значение прямолинейной скорости движения – 55,3 мкм/с, а частота колебательных движений головки сперматозоида – 26 Гц.

Ключевые слова: криоконсервированная сперма, подвижность, прямолинейная скорость движения, частота колебаний головки сперматозоида, морфометрия, размеры сперматозоида, длительное хранение, порода

Вступ. Кріоконсервація і довготривале зберігання сперми є цінним інструментом для збереження генетичних ресурсів різних видів сільськогосподарських тварин. Це забезпечується на основі створення генофондових стад у поєднанні з накопиченням генетичного матеріалу в кріобанках [1]. Згідно програми збереження генофонду локальних та зникаючих порід необхідно проводити періодичний моніторинг якості генетичних ресурсів кріобанку для встановлення доцільності їх подальшого зберігання та можливості використання в селекційному процесі [7].

Серед основних фізіологічних показників при оцінці якості сперми на племпідприємствах є рухливість і виживаність. Важливо досліджувати крім основних показників ще показники динамічних характеристик руху сперматозоїдів. Одним з основних показників динамічних характеристик руху, яким можна охарактеризувати розморожену спермодозу, є параметри швидкості руху сперматозоїдів. Деякі вчені проводили дослідження швидкості руху сперматозоїдів в заморожено-розмороженій спермі [2, 5], тоді як дослідженню лінійних розмірів сперматозоїдів бугаїв в умовах довготривалого зберігання приділялось менше уваги

[4, 8, 10]. Експериментальними дослідженнями встановлено, що показники рухливості і виживаності деконсервованої сперми бугаїв, залишаються на високому рівні при зберіганні навіть десятки років [3, 6]. Порушення у будові сперматозоїда можуть призводити до зміни параметрів динамічних характеристик. Сперматозоїди тварин кожного виду характеризуються специфічною формою, величиною та структурою. В популяціях нормальних сперматозоїдів постійно міститься деяка кількість сперміїв, які відхиляються в той чи інший бік за своїми розмірами. Значна різниця в розмірах сперматозоїдів може спричиняти зміну динамічних характеристик руху [4, 5].

У літературних джерелах недостатньо інформації щодо динамічних характеристик руху та морфометричних параметрів сперматозоїдів бугаїв залежно від тривалості їх зберігання в рідкому азоті, що зумовлює актуальність наших досліджень та становить науковий і практичний інтерес.

Мета роботи – дослідити динамічні характеристики руху та морфометричні параметри сперматозоїдів бугаїв за умов довготривалого зберігання.

Матеріал і методика досліджень. Дослідження проводили з використанням кріоконсервованої сперми 155 бугаїв різних термінів зберігання в рідкому азоті. Термін зберігання досліджуваних спермодоз становив від 10 до 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 морфометричних характеристик сперматозоїдів бугаїв проводили за загальноприйнятою методикою з використанням мікроскопа Olympus CX-31 та окуляр-мікрометра. Підготовлені препарати сперматозоїдів аналізували при збільшенні в 600-1000 разів згідно з ГОСТом 20909.3-75. Одержані матеріали наукових досліджень обробляли методами математичної статистики засобами програмного пакету «Statistica – 6.1».

Результати досліджень. В результаті проведених досліджень встановлено, що розміри сперматозоїдів бугаїв молочних і м'ясних порід майже не відрізнялися між собою, тоді як динамічні характеристики руху сперматозоїдів були вищими у бугаїв молочних порід в середньому на 5 % ($p < 0,01$). Серед 12 динамічних характеристик, які показує програма «Sperm Vision» ми проаналізували такі: фактична пройдена відстань (DCL), мкм, частота коливальних рухів головки (BCF), Гц, фактична швидкість руху (VCL), мкм/с, прямолінійна швидкість руху (VSL), мкм/с, середня швидкість руху (VAP), мкм/с [9].

При порівнянні морфометричних і динамічних характеристик сперматозоїдів виявлено, що у більшості порід розміри головки і хвоста мали подібні значення, а параметри швидкості руху сперматозоїдів бугаїв мали вірогідні відмінності. Слід відмітити, що за довготривалого зберігання відбувається незначне коливання розмірів сперматозоїдів. Вірогідну різницю встановлено між лінійними розмірами сперматозоїдів за терміну зберігання 20, 30 і 40 років. За більш тривалого терміну зберігання були нижчі показники лінійних розмірів сперматозоїдів в середньому на 2,5 % ($p < 0,05$) (табл.). Слід зазначити, що динамічні характеристики руху сперматозоїдів бугаїв за терміну зберігання 40 років були нижчі в середньому на 9,0 % ($p < 0,05$), ніж за терміну зберігання 20 років. Середнє значення середньої швидкості руху становило 69,1 мкм/с, прямолінійної швидкості руху – 55,3 мкм/с, а частоти коливальних рухів головки сперматозоїда – 26 Гц (табл.).

У бугаїв білоголової української породи за терміну зберігання 40 років спостерігались нижчі показники динамічних характеристик руху сперматозоїдів в середньому на 9 %, ніж за терміну зберігання 20 років, хоча різниця була не вірогідна.

Для різних динамічних характеристик руху сперматозоїда характерний низький рівень мінливості (C_v , % = 10,7-20,2 %). При аналізі динамічних характеристик більш стабільним показником є частота коливальних рухів головки сперматозоїда (C_v , % = 10,7–15,4 %), а більш варіабельним – пройдена відстань та швидкість сперматозоїда (C_v , % = 14,3–20,2 %).

У бугаїв симентальської породи в процесі довготривалого зберігання (від 20 до 40 років) спостерігалось зниження фактичної пройденої відстані на 10,8 % ($p < 0,001$), а також швидкості

Морфометрія і динамічні характеристики руху сперматозоїдів бугаїв за умов довготривалого зберігання в рідкому азоті, $M \pm m/Cv$

Показники якості сперми	Середні значення за породами	Термін зберігання, роки (n=155)		
		20	30	40
Довжина головки, мкм	8,6±0,02 6,0	8,64±0,03 6,4	8,48±0,04** 5,2	8,55±0,05 5,6
Ширина головки, мкм	4,4±0,02 8,3	4,43±0,02 8,4	4,37±0,03 7,1	4,3±0,04** 9,1
Довжина хвоста, мкм	45,6±0,24 11,5	46,0±0,3 11,7	44,6±0,44** 10,8	45,8±0,6 11,2
Довжина тіла, мкм	9,6±0,04 9,7	9,6±0,05 9,0	9,52±0,09 10,0	9,5±0,1 11,8
Загальна довжина спермія, мкм	64,5±0,26 8,8	65,0±0,34 8,9	63,4±0,47** 8,1	64,7±0,7 9,1
Фактична пройдена відстань (DCL), мкм	53,4±0,4 16,3	54,4±0,5 16,0	53,5±0,8 16,2	49,5±0,9*** 15,6
Частота коливальних рухів головки (BCF), Гц	25,9±0,2 14,3	26,0±0,23 15,2	25,3±0,25 10,7	26,0±0,5 15,4
Фактична швидкість руху (VCL), мкм/с	122,2±0,9 15,6	124,4±1,1 15,2	122,5±1,8 15,6	113,6±1,9*** 14,8
Прямолінійна швидкість руху (VSL), мкм/с	55,3±0,5 19,4	56,8±0,7 20,2	54,0±0,8 16,9	51,7±1,0*** 17,1
Середня швидкість руху (VAP), мкм/с	69,1±0,5 15,9	70,8±0,7 16,2	68,0±0,9 14,3	64,5±1,1*** 14,3

Примітка. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$

руху в середньому на 8,4 мкм/с, або 10,5 % ($p < 0,001$) (рис.). Відповідно, знижувалися і лінійні розміри сперматозоїдів. У бугаїв бурої карпатської породи за терміну зберігання 20 років спостерігались вищі показники динамічних характеристик руху сперматозоїдів в середньому на 4 %, ніж за терміну зберігання 40 років, хоча різниця була не вірогідна. У процесі виконання досліджень нами було проведено кореляційний аналіз між динамічними характеристиками руху сперматозоїдів і лінійними розмірами. Кореляційним аналізом встановлено, що динамічні характеристики сперматозоїдів взаємозалежні з показниками ППР ($r = 0,31$ ($p < 0,05$)) і АПП ($r = 0,35$ ($p < 0,05$)). Обернена кореляційна залежність була встановлена між відсотком пошкоджених акросом, % патологічних форм і кількістю мертвих клітин та розміром сперматозоїдів ($r = -0,12$ – $-0,32$) ($p < 0,05$). Встановлено, що коефіцієнт кореляції між розміром сперматозоїда і прямолінійною швидкістю руху мав позитивне значення слабкої сили $r = 0,15$ ($p < 0,05$).

Вищі показники динамічних характеристик руху (середнє значення за породами) мали бугаї української червоно-рябої молочної, білоголової української та лебединської порід. Сперма деяких бугаїв характеризувалася низькими значеннями динамічних характеристик руху сперматозоїдів, що пов'язано з індивідуальними особливостями бугаїв.

Висновки. В результаті кореляційного аналізу встановлена вірогідна залежність між відсотком пошкоджених акросом, кількістю патологічних форм і мертвих клітин та розміром сперматозоїдів ($r = -0,12$ – $-0,32$) ($p < 0,05$). Визначена достовірна кореляційна залежність між довжиною сперматозоїда і динамічними характеристиками руху ($r = 0,15$ ($p < 0,05$)).

За результатами досліджень, встановлено, що за умов довготривалого зберігання сперми у бугаїв деяких порід спостерігалася тенденція до зменшення розмірів частин сперматозоїдів внаслідок їх можливого пошкодження, та зниження динамічних характеристик руху. У бугаїв молочних порід прямолінійна швидкість руху сперматозоїдів була вищою на 6,5 % ($p < 0,01$), ніж у бугаїв м'ясних порід. Динамічні характеристики руху сперматозоїдів за терміну зберігання 40 років були нижчими в середньому на 9,0 % ($p < 0,05$), ніж за терміну зберігання 20 років.

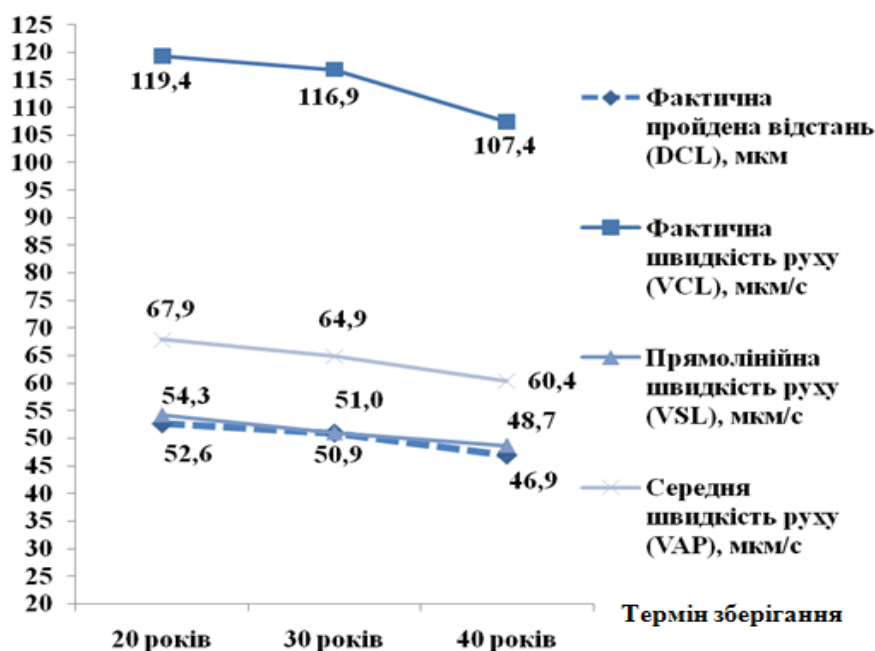


Рис. Динамічні характеристики руху сперматозоїдів бугаїв симентальської породи за різних термінів зберігання (n=20)

Результати проведених досліджень мають поглибити теоретичні знання про динамічні характеристики руху та лінійні розміри сперматозоїдів бугаїв залежно від тривалості зберігання.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. 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.
2. Кругляк, А. П. Якість замороженої сперми, що зберігалася понад 40 років / А. П. Кругляк // Розведення і генетика тварин: міжв. темат. наук. зб. – К. : Аграрна наука, 2001. – Вип. 34. – С. 66–67.
3. Курбатов, А. Д. Криоконсервация спермы сельскохозяйственных животных / А. Д. Курбатов, Е. М. Платов. – Л. : Агропромиздат, 1998. – 186 с.
4. Ляшенко, А. О. Вплив термінів зберігання сперми бугаїв рідкісних і локальних порід на морфологічні і морфометричні показники / А. О. Ляшенко // Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН. Вісник Центру наукового забезпечення АПВ Харківської області: науково-виробничий збірник. – Харків, 2014. – Вип. 17. – С. 237–246.
5. Наук, В. А. Структура и функции спермиев сельскохозяйственных животных при криоконсервации / В. А. Наук. – К. : Штиинца, 1991. – 199 с.
6. Осташко, Ф. И. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей / Ф. И. Осташко. – К. : Урожай, 1978. – 256 с.
7. Програма збереження локальних та зникаючих порід сільськогосподарських тварин в Україні (згідно з вимогами ФАО). «Збереження генофонду». Інститут розведення і генетики тварин НААН. – Чубинське, 2013. – 24 с.
8. Effects of cryopreservation on bull sperm head morphometry / C. G. Gravance, R. Vishwanath, C. Pitt, D. L. Garner, P. J. Casey // J. Andrology. – 1998. – № 19 (6). – P. 704–709.
9. Mortimer, S. T. CASA – practical aspects / S. T. Mortimer // J. Andrology. – 2000. – № 21 (4), P. 515–524.
10. Sundararaman, M. N. Analyses of morphological and morphometrical deviations of bull spermatozoa by computer assisted semen analysis technique / M. N. Sundararaman, J. Kalatharan, K. Thilak, Pon Jawahar // Asian Journal of Animal and Veterinary Advances. – 2007. – № 2. – P. 196–204.

REFERENCES

1. Zubets', M. V., V. P. Burkat, Yu. F. Mel'nyk, [et al.]. 2007. *Metodolohichni aspekty zberezhennya henofondu sil's'kohospodars'kykh tvaryn - Methodological aspects of gene pool preservation of farm animals*. Nauk. red. I. V. Huzyev. Kyiv, Ahrarna nauka, 120 (in Ukrainian).
2. Kruhlyak, A. P. 2001. Yakist' zamorozhenoyi spermy, shcho zberihalasya ponad 40 rokiv – The quality of frozen semen that was stored for over 40 years. *Rozvedennya i henetyka tvaryn - Animal Breeding and Genetics*. Kyiv, Ahrarna nauka, 34: 66–67 (in Ukrainian).
3. Kurbatov, A. D., and E. M. Platov 1998. *Kriokonservatsiya spermy sel'skokhozyaystvennykh zhyvotnykh – Cryopreservation of sperm of farm animals*. Leningrad, Agropromizdat, 186 (in Russian).
4. Lyashenko, A. O. 2014. Vplyv terminiv zberihannya spermy buhayiv ridkisnykh i lokal'nykh porid na morfolohichni i morfometrychni pokaznyky. Effect of long-term storage the semen of bull rare and local breeds on morphological and morphometric parameters. Instytut roslynnytstva im. V. Ya. Yur'yeva NAAN. *Visnyk Tsentru naukovoho zabezpechennya APV Kharkivs'koyi oblasti: naukovo-vyrobnychyy zbirnyk - Bulletin of the Center for scientific support agricultural production of Kharkiv region*. Kharkiv, 17: 237–246 (in Ukrainian).
5. Nauk, V. A. 1991. *Struktura i funkcii spermiev sel'skohozyajstvennykh zhyvotnykh pri kriokonservatsii – Structure and function of sperm cryopreservation in farm animals*. Kyiv, Shtiinca. 199 (in Russian).
6. Ostashko, F. I. 1978. *Glubokoe zamorazhivanie i dlitel'noe hranenie spermy proizvoditelej – Deep freezing and long-term storage of semen producers*. Kyiv, Urozhaj, 256 (in Russian).
7. Prohrama zberezhennya lokal'nykh ta znykayuchykh porid sil's'kohospodars'kykh tvaryn v Ukrayini (z-hidno vymohamy FAO). «Zberezhennya henofondu»: 2013. *Program of preservation the local and endangered breeds of farm animals in Ukraine (according to the requirements of FAO). "Conservation of the gene pool."* Instytut rozvedennya i henetyky tvaryn NAAN - Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS. Chubynske, 24 (in Ukrainian).
8. Gravance, C. G., R. Vishwanath, C. Pitt, D. L. Garner, P. J. Casey. 1998. Effects of cryopreservation on bull sperm head morphometry. *J. Andrology*. 19 (6): 704–709.
9. Mortimer, S. T. 2000. CASA – practical aspects. *J. Andrology*. 21 (4): 515–524.
10. Sundararaman, M. N, J. Kalatharan, and K. Thilak, Pon Jawahar. 2007. Analyses of morphological and morphometrical deviations of bull spermatozoa by computer assisted semen analysis technique. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2: 196–204.



УДК 636.2.034.612:602

РОЛЬ СОМАТОТРОПНОГО ГОРМОНА В СОСТАВЕ СРЕД ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭМБРИОНОВ *IN VITRO*

**В. П. СИМОНЕНКО, А. И. ГАНДЖА, Л. Л. ЛЕТКЕВИЧ, И. В. КИРИЛЛОВА,
О. П. КУРАК, Н. В. ЖУРИНА, М. А. КОВАЛЬЧУК**

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» (Жодино, Беларусь)
belniig@tut.by

Усовершенствованный состав питательных сред для созревания ооцитов и культивирования ранних зародышей с использованием соматотропного гормона обеспечивает повышение уровня созревания яйцеклеток до стадии метафаза II до 89,2–

©В. П. Симоненко, А. И. Ганджа, Л. Л. Леткевич,
И. В. Кириллова, О. П. Курак,
Н. В. Журина, М. А. Ковальчук, 2015