

УДК 636. 4

**Базалевич А.В.**, кандидат сільськогосподарських наук  
Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

## ОЦІНКА ЯКОСТІ СПЕРМИ КНУРІВ МИРГОРОДСЬКОЇ ПОРОДИ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ПРИДАТНОСТІ ДО ЗАМОРОЖУВАННЯ

*Рецензент - кандидат сільськогосподарських наук О.А. Біндюг*

*Проведені комплексні дослідження сперми кнурів миргородської породи за фізіологічними показниками придатності її до кріоконсервації. Кращими за терморезистентною пробою та тестом стресстійкості були кнури - Дніпро 641 та Комиш 853. Встановлена придатність еякулятів зазначених кнурів для кріоконсервування як за загальними фізіологічними показниками, так і такими, що вказують на стійкість спермій до екстремальних температур: термостресстійкість – становила відповідно  $42 \pm 7,41$  % та  $44 \pm 9,74$  %.*

*Ключові слова: кнур, порода, якість сперми, кріоконсервація, ТРП- терморезистентна проба, ТСС-термостресстійкість.*

**Постановка проблеми.** Вітчизняні малочисельні породи свиней в Україні являють значний інтерес, як реальний і потенційний резерв генетичного матеріалу, необхідного для розвитку світового тваринництва. Країни Євросоюзу зберігають заморожену сперму кнурів місцевих порід обмеженої чисельності в Європейському Кріобанку свинарства. У цьому технологічному процесі рівень виживаності розморожених спермій 50% на сьогодні вважається істотним досягненням. Отже, на відміну від скотарства, проблема збереження запліднюючої здатності заморожено-відталих спермій кнура залишається до кінця не вирішеною через її біохімічно - фізіологічні особливості.

**Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми.** На фоні відомих епізоотій в Європі вітчизняні породи свиней представляють певний інтерес як реальний і потенційний резерв генетичного матеріалу, необхідний для розвитку світового тваринництва. Різноманітність генетичних ресурсів свійських тварин, що є в Україні, при відповідній підтримці міжнародних і вітчизняних організацій, могла б забезпечити розвиток аграрного і продуктового ринків як в Україні, так і в Європі. Утрата певного генетичного матеріалу, унікальних комплексів генів, біологічно-господарських ознак притаманних локальним породам свиней, негативно впливає на селекційну роботу, яка повинна бути направлена на покращення якості тваринницької продукції, а також зростання стійкості тварин до впливу факторів навколишнього середовища, резистентності до місцевих захворювань. Має бути певний „запас генів”, який при необхідності можна буде використовувати в селекційній роботі для поліпшення тих чи інших продуктивних якостей тварин. Такий „запас генів” може бути створений шляхом зберігання генетичного матеріалу у вигляді гамет.

Традиційні методи кріоконсервації сперми кнура, розроблені ще у 70-х рр. минулого сторіччя [7] і пізніше модифіковані застосуванням соломинок [6], не забезпечують стабільності і достатньої ефективності результатів. Саме тому використання у виробничих умовах заморожено-відталої сперми у світі поки-що залишається на досить низькому рівні: 0,5 % у 1985 році та близько 1 % у 2000 році загальної кількості

осіменених свиноматок. У той же час, зарубіжні компанії, які займаються відтворенням поголів'я свиней, виявляють все більшу зацікавленість до подальшого розвитку цієї біотехнології, оскільки використання заморожено-відталого сперми більш ефективно порівняно з свіжоодрержаною. Використання кріоконсервованої сперми дозволяє в короткі строки покращити генотип поголів'я, замінити дорогий імпорт племінних кнурів імпортом їх кріоконсервованої сперми, виключити втрати тварин, пов'язані з адаптацією до інших умов годівлі та утримання, запобігти ризику завозу патогенної мікрофлори.

Успіх збереження генетичного потенціалу видатних кнурів-плідників шляхом кріоконсервації сперми буде визначатись подоланням порогу високої чутливості спермій до холодового шоку. Ця проблема пов'язана з ліпідною композицією мембрани спермій кнура, в якій присутні у відносно великих концентраціях поліненасичені жирні кислоти, кількість яких істотно знижується протягом кріоконсервації, зокрема після фази відтаювання в результаті їх переокисного окислення [5]. Аналіз численних джерел літератури з питань кріоконсервації сперми кнура дозволяє зробити наступне узагальнення особливостей цього процесу. Існують численні ендогенно – фізіологічні, біохімічні і молекулярно-генетичні – видові особливості сперми, а також екзогенних факторів впливу- (середовищне і технологічне), які в цілому визначають проблемну ситуацію із кріоконсервації її, а тому постає необхідність дослідження кожного з таких факторів окремо, але з урахуванням генотипу кнура. У зв'язку з цим, удосконалення технології кріоконсервації знаходиться під постійною увагою науковців країн з високорозвинутим свинарством.

Існуючі методи кріоконсервації поки що не забезпечують максимального збереження біологічної повноцінності сперми, що призводить до зниження і нестабільності результатів осіменіння свиноматок відталою після заморожування спермою. Отже, удосконалення методу кріоконсервації сперми кнурів залишається важливою задачею сучасного свинарства. [4]

Використання сперми кнурів-плідників довготривалого зберігання (замороженої в рідкому азоті при  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) у виробничих умовах поки що обмежено, в зв'язку з низьким рівнем заплідненості свиноматок та їх продуктивністю. Однією з основних причин такого явища є низька функціональна активність спермій після процедури заморожування-відтавання (кріоконсервації), яка в кращому випадку становить близько 4-5 балів. Причому, відомо, що тільки від незначного відсотку наявного поголів'я кнурів можна одержати сперму, яка витримує наднизькі температурні умови. Отже, попередній відбір еякулятів кнурів, придатних до кріоконсервації, має суттєве значення в практиці відтворення поголів'я.

Тому нами було розроблено ефективний спосіб відбору еякулятів за високою здатністю витримувати багаторазові контрастні температури, визначити рівень життєздатності спермій кнура в діапазоні від температури тіла тварини (приблизно  $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) до передпорогової межі температурного шоку (приблизно  $13\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) [ 1, 2 ].

Суть запропонованого нами способу полягає в тому, що він дає можливість виявляти еякуляти кнурів, придатні до заморожування, в підготовчий період технологічного процесу кріоконсервації, завдяки дії багаторазової перемінно-контрастної плюсової температури на спермії – як негативного стрес-фактору.

Придатними для використання вважаються ті еякуляти, ППР спермій яких, після дії контрастної позитивної температури, становив не менше 4 балів. Таким чином, ТСС спермій може слугувати об'єктивним показником прогнозування придатності еякулятів кнурів до кріоконсервації і бути використаним на виробництві. Поряд з цим способом визначення придатності сперми до заморожування загально визнана і перевірена практикою терморезистентна проба. Їх поєднання дасть можливість спрогнозувати якість сперми стосовно її на придатність до кріоконсервації за вище зазначеними показниками.

**Мета досліджень та методика їх проведення.** Метою наших досліджень було визначити придатність сперми кнурів миргородської породи до кріоконсервування.

У дослідженнях були використані кнури миргородської породи, завезені із плем-заводу ім. Декабристів і вирощені на експериментальній базі Інституту. Годівля тварин здійснювалась збалансованими комбікормами (ДСТУ 2421 – 94), згідно існуючих норм.

У піддослідних 8-місячних кнурців послідовно, з двохтижневим інтервалом, в осінній період року (вересень-листопад) були відібрані по 5 проб сперми, які були оцінені за основними параметрами, що мають важливе значення для прогнозованої оцінки придатності сперміїв до кріоконсервування та збереження їх активності після процедури розморожування.

Оцінку якості свіжоотриманої сперми кнурів виконували згідно з “Інструкцією із штучного осіменіння свиней” [1] за об’ємом еякуляту, концентрацією сперматозоїдів, їх активністю (рухливістю), (терморезистентна проба) прискорений метод визначення виживання сперміїв, тест на термостресстійкість [2], та визначали придатність її до кріоконсервації і довготривалого збереження в Банку генетичних ресурсів ІРГТ НААН.

**Результати досліджень.** Результати досліджень показують, що загальний об’єм сперми, отриманої від кожного з трьох кнурців, відрізнявся незначною мірою і перебував у межах 186-228 см<sup>3</sup> при концентрації сперміїв 164,29-167,38 млн/см<sup>3</sup>. Проте, показники рухливості сперми кнура №289 Коханого були нижчими, складаючи в середньому 78±4,18% проти 82±6,51% у Комиша 853 та 84±4,47% у Дніпра 641 (див. табл.).

#### Показники якості спермопродукції кнурів на придатність її до заморожування (n=15), M±m

Показники якості сперми	Піддослідні кнури		
	№ 641 Дніпро	№ 853 Комиш	№ 289 Коханий
Об’єм еякуляту, см <sup>3</sup>	226±31,13	186±29,7	214±24,39
Загальна кількість сперміїв, млрд.	36,74±4,70	30,72±5,98	35,13±3,96
Концентрація сперміїв, млн/см <sup>3</sup>	165,3±14,26	164,29±18,86	167,38±20,7
Рухливість сперміїв,%	84±4,47	82±6,51	78±4,18
ТРП, %	42±6,51	56±12,04	56±12,04
ТСС, %	42±7,41*	44±9,74*	14±2,73

*Примітка:* \* -  $p < 0,05$  порівняно з спермою кнура Коханого  
ТРП – терморезистентна проба; ТСС – термостресстійкість

За основними показниками придатності сперми кнурів до кріоконсервування – терморезистентною пробою та тестом стресстійкості, кращими показниками характеризувалася сперма кнура Комиша 853, для якого показники ТРП та ТСС становили відповідно 56±12,04 % та 44±9,74 %. Термостресстійкість сперми кнура Коханого 289 на рівні 14±2,73 дає підставу зробити висновок про непридатність генеративних клітин цієї тварини для тривалого зберігання шляхом кріоконсервування.

**Висновки.** 1. Спостерігаються індивідуальні особливості якості спермопродукції кнурів миргородської породи, що впливають на її придатність до кріоконсервації.

2. Найкращою, за показником ТСС, була сперма кнурців - Дніпра 641 та Комиша 853, і становила відповідно 42±7,41 % та 44±9,74 %, а отже була потенційно придатною до заморожування.

#### БІБЛІОГРАФІЯ

- Інструкція із штучного осіменіння свиней. / Відпов. за вип. Ю.Ф. Мельник. – К.: Аграрна наука, 2003. – 56 с.
- Пат. 52538 Україна, МПК А61D 19/00. Спосіб прогнозування термостресстійкості сперміїв кнура. / Квасницький О.В., Мартиненко Н.А., Коваленко В.Ф., Базале-

вич А.В.; заявник і патентовласник ІС УААН.-у 201003336; заяв. 22.03.2010; опубл. 25.08.2010, Бюл. № 16.

3. Коваленко В.Ф. Використання у тваринництві низьких температур для селекції статевих клітин. / В.Ф. Коваленко, А.В. Базалевич / Зб. наук. праць „Біотехнологічні, селекційні та організаційні методи відтворення, зберігання і використання генофонду тварин”. – Київ. 1997. – С.74-75.

4. Нарижный А.Г. Влияние способов обработки спермы перед замораживанием на показатели заморожено-оттаянной спермы. / А.Г. Нарижный, Н.И. Крейндына // Зоотехния. – 2007. - № 7. – С. 31-32.

5. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. / Maldjian A., Pizzi F., Gliozzi T. [et al.] // Theriogenology. – 2005. – 63. – 2. - P. 411-421.

6. Pettitt M. Extender components and surfactants affect boar sperm function and membrane structure during cryopreservation. / M. Pettitt, M. Buhr // J Androl 1998. – 19. – P.736–746.

7. Pursel, V.G. Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. / V.G. Pursel, L.A. Johnson. // J. Anim. Sci.. – 1975. – 40. – P.99–102.

**Базалевич А.В.** Оценка качества спермы хряков миргородской породы за показателями пригодности к замораживанию.

*Проведены комплексные исследования спермы хряков миргородской породы по физиологическим показателям пригодности к криоконсервации. Лучшими за терморезистентной пробой и тестом на стрессостойкость были хряки - Днепро 641 и Камыш 853. Установлена пригодность эякулятов хряков для криоконсервации как за общепринятыми физиологическими показателями, так и которые указывают на стойкость спермиев к экстремальным температурам: ТСС - становила соответственно  $42 \pm 7,41$  % и  $44 \pm 9,74$  %.*

*Ключевые слова: хряк, порода, качество спермы, криоконсервация, ТРП-терморезистентная проба, ТСС – термострессостойкость.*

**A.V. Bazaleyvych.** The estimation of boars sperm quality of the Myrgorod breed for indexes of the suitability to freezing.

*Complex researches of boars' sperm of the Myrgorod breed for physiological indexes of its suitability to cryopreservation were carried out. Boars – Dnipro 641 and Komysch 853 were better for thermoresistance trial (TRT) and test of the stress stability. It was determined the suitability of ejaculates of these boars for cryopreservation nice for general physiological indexes and also for those, which point at the stability of spermatozoa to extreme temperatures TRT was  $42.00 \pm 7.41\%$  and  $44.00 \pm 9.74\%$  accordingly.*

*Key words: boar, sperm, cryopreservation.*