

8. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. – М.: Колос, 1969. – 255 с.

9. Боголюбский С.Н. Происхождение и преобразование домашних животных. – М.: Советская наука, 1959. – 595 с.

10. Ларионов В.Ф., Панкратьев Г.В. Русские подсадные утки // Птицеводство. – 1955. – № 4. – С. 14-18.

11. Иванова В.С., Трошкина Н.Н. Масса тела у разных форм кряквы // Дичеразведение в охотничьем хозяйстве: матер. науч. тр. ЦНИЛ Главохоты РСФСР. – М., 1985. – С. 157-159.

References

1. Miller D.B. Maternal vocal control of behavioral inhibition in mallard ducklings (*Anas platyrhynchos*) // Journal of Comparative and Physiological Psychology. – 1980. – Vol. 94. – P. 606-623.

2. Miller D.B. Alarm call responsivity of mallard ducklings: I. The acoustical boundary between behavioral inhibition and excitation // Developmental Psychobiology. – 1983. – Vol. 16 (3). – P. 185-194.

3. Miller D.B. Alarm call responsivity of mallard ducklings: II. Perceptual specificity along an acoustical dimension affecting behavioral inhibition // Developmental Psychobiology. – 1983. – Vol. 16 (3). – P. 195-205.

4. Sorokin N. Russkaya podsadnaya // Okhota i okhotnich'e khozyaistvo. – 2006. – № 4. – С. 20-22.

5. Darwin Ch. Izmenenie domashnikh zhivotnykh i kul'turnykh rastenii. – М., 1868. – 504 с.

6. Ivanova V.S., Troshkina N.N. Metodicheskie rekomendatsii po kontrolyu za razvitiem molodnyaka ptits, vyrashchennykh v iskusstvennykh usloviyakh. – М., 1986. – 10 с.

7. Fokin S.Yu., Polyakov I.V., Chernov V.V., Aksenov S.V. Letnye kachestva i morfo-biologicheskie osobennosti trekh form kryakvy kak ob"ektov dicherazvedeniya. Zool'kul'tura tsennykh i redkikh ptits i zveri. TsNIL Glavokhoty RSFSR. Sb. nauchn. tr. – М., 1989. – С. 16-30.

8. Plokhinskii N.A. Rukovodstvo po biometrii dlya zootekhnikov. – М., Kolos, 1969. – 255 с.

9. Bogolyubskii S.N. Proiskhozhdenie i preobrazovanie domashnikh zhivotnykh. – М.: Sovetskaya nauka, 1959. – 595 с.

10. Larionov V.F., Pankrat'ev G.V. Russkie podsadnye utki // Ptitsevodstvo. – 1955. – № 4. – С. 14-18.

11. Ivanova V.S., Troshkina N.N. Massa tela u raznykh form kryakvy / Dicherazvedenie v okhotnich'em khozyaistve: mater. nauch. tr. TsNIL Glavokhoty RSFSR. – М., 1985. – С. 157-159.



УДК 636.2.082.4:57.086.13:591.463.11

А.А. Ляшенко
A.A. Lyashenko



БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАЗМОРОЖЕННОЙ СПЕРМЫ БЫКОВ РАЗНОГО СРОКА ХРАНЕНИЯ В ЖИДКОМ АЗОТЕ

BIOLOGICAL INDICES OF THAWED BULL SEMEN OF VARIOUS STORAGE PERIODS IN LIQUID NITROGEN

Ключевые слова: активность, выживаемость, криоконсервированная сперма, морфологические характеристики сперматозоидов, патологические формы, долгосрочное хранение, морфометрия, порода.

Хранение спермы производителей в замороженном состоянии имеет неоспоримое преимущество перед другими существующими методами. Этот способ позволяет сохранять сперму длительное время и создавать её запас от ценных производителей. В криобанках страны накоплены сотни миллионов доз спермы от высокоценных быков-производителей и других видов животных. Актуально проводить мониторинг качества генетических ресурсов криобанков для возможности их использования в селекционном процессе. Проведено исследование морфологических характери-

стик деконсервированных сперматозоидов быков молочных пород Банка генетических ресурсов в условиях длительного хранения в жидком азоте. Установлена достоверная разница между показателями патологических и мёртвых форм спермиев быков ($r = 0,5$) ($p < 0,05$). Были исследованы показатели подвижности, скорости движения и выживаемости размороженных сперматозоидов быков молочных пород в зависимости от сроков хранения. По результатам исследований установлено, что при сроках хранения 10-20 лет низкий процент патологических форм (17,8%), повреждённых акросом (20,7%), и мёртвых клеток (24,1%), наблюдался в сперме быков украинской чёрнопёстрой молочной породы. В сперме быков голштинской породы наблюдалось больше повреждённых акросом (22,7%), мёртвых (32,4%) и патологических форм (19,8%) сперматозоидов.

Следует отметить, что при долговременном хранении сперма характеризовалась высокими значениями активности (5,7 балла), абсолютной выживаемости (20,5 усл. ед.) и времени выживания спермиев (5,1 ч), а процент патологических (18,9%) и мёртвых клеток (29,4%) у быков молочных пород несколько увеличивается. Результаты исследований свидетельствуют о необходимости проведения периодического мониторинга качественных показателей спермы для подтверждения целесообразности её дальнейшего хранения и возможности использования в селекционном процессе.

Keywords: motility, viability, cryopreserved semen, morphological features of sperm cells, pathological forms, long-term storage, morphometry, breed.

Storage of frozen semen of sires has a distinct advantage over other existing methods. That method enables storing semen for a long time and to create the stock of semen of valuable bulls. Hundreds of millions semen doses from valuable bulls and other animal species are stored in the cryobanks of the country. It is important to monitor the quality

of the genetic resources of the cryobanks for their possible use in animal breeding. The morphological indices of thawed bull semen of dairy breeds from the Bank of Genetic Resources after long-term storage in liquid nitrogen were studied. A significant difference between the indices of pathological and dead forms of bull semen was revealed ($r = 0.5$) ($p < 0.05$). The indices of motility, speed and survival of thawed semen of the bulls of dairy breeds were investigated depending on storage period. At storage period of 10-20 years, low percentages of pathological forms (17.8%), damaged acrosomes (20.7%) and dead cells (24.1%) were found in the semen of the bulls of Ukrainian Black-Pied dairy breed. Greater percentage of damaged acrosomes (22.7%), dead (32.4%) and pathological forms (19.8%) of sperm was found in the semen of Holsteins bulls. After long-term storage the semen revealed high motility (5.7 points), absolute survival (20.5 c.u.) and sperm cell survival time (5.1 h); the percentage of pathological (18.9%) and dead cells (29.4%) in the semen of dairy bulls somewhat increased. The research results suggest the need for regular monitoring of semen quality to confirm the practicability of its further storage and the possibility of its use in breeding.

Ляшенко Андрей Александрович, аспирант, н.с., отдел животноводства, Черкасская опытная станция биоресурсов НААН Украины. Тел.: +380-472-314052. E-mail: scientist_andru@ukr.net.

Lyashenko Andrey Alexandrovich, Post-Graduate Student, Staff Scientist, Dept. of Animal Production, Cherkassy Experimental Station of Bioresources of Natl. Acad. of Agr. Sci., Ukraine. Ph.: +380-472-314052. E-mail: scientist_andru@ukr.net.

Введение

Процесс криоконсервации спермы стал ценным инструментом для сохранения генетических ресурсов производителей, имеет большое значение в разведении и поддержании биоразнообразия [1-3]. Полноценная реализация мероприятий по сохранению племенных ресурсов сельскохозяйственных животных обеспечивается на основе замораживания и долговременного хранения генетического материала в криобанках. Основное назначение банка состоит в накоплении и длительном хранении генетических ресурсов разных видов сельскохозяйственных животных, а также проведении комплекса организационных и технологических мероприятий по сохранению и рациональному использованию имеющегося генофонда [4, 5]. Научными исследованиями некоторых авторов установлено, что глубокозамороженная сперма быков может сохранять на высоком уровне показатели подвижности, выживаемости, морфологии и оплодотворяющей способности [6, 7]. При использовании спермы для искусственного осеменения повышение количества анормальных сперматозоидов ведет к снижению оплодотворяемости животных [8]. В литературных источниках недостаточно информации относительно состояния морфологических и физиологических характеристик сперматозоидов быков молочных пород, в зависимо-

сти от их хранения в жидком азоте свыше 15 лет, что и предопределяет актуальность наших исследований в данном направлении.

Целью работы было оценить показатели подвижности, скорость движения и выживаемость сперматозоидов быков молочных пород, а также исследовать состояние акросомы и содержание патологических форм в условиях длительного хранения спермы в жидком азоте.

Методы исследования

Объектом исследования была замороженная сперма быков украинской краснопёстрой (УКП), чёрно-пёстрой (УЧП) молочных и голштинской пород.

Исследовали замороженную сперму 50 быков 3 пород. Срок хранения исследуемых спермодоз составлял от 10 до 30 лет. Нами было разделена сперму быков на две группы: 1-я – со сроками хранения 10-20 лет, 2-я – 21-30 лет. Исследования проводили в лаборатории ЧАО НПО «Прогресс» с использованием микроскопа Olympus CX-31. Оценка показателей подвижности и скорости движения сперматозоидов проводили с использованием программного компьютерного анализа подвижности – Sperm Vision фирмы «Minitub». Определение процента живых-мёртвых сперматозоидов и показателей морфологии сперматозоидов

быков проводили по общепринятой методике согласно ГОСТ 20909.4-75 и ГОСТ 27777-88.

В процессе изучения корреляционных связей между качественными показателями спермы использовали корреляционно-регрессионный анализ. Полученные материалы научных исследований обрабатывали методами математической статистики по алгоритмам Н.А. Плохинского средствами программного пакета «Statistica-6.1» [9].

Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что при сроках хранения 10-20 лет активность, выживаемость и прямолинейная скорость движения сперматозоидов быков голштинской породы были немного выше, чем при сроках хранения 21-30 лет (табл. 1). Наибольшая изменчивость была характерна для абсолютной выживаемости ($C_v - 26,1-30,5\%$). Различия по проценту патологических и мёртвых клеток в зависимости от срока хранения были статистически недостоверны, а разница возможна из-за индивидуальных характеристик некоторых быков в конкретной группе. Так, при сроке хранения 21-30 лет процент повреждённых акросом спермиев был выше на 2,3% ($p < 0,05$), чем при 10-20 лет. У быков голштинской породы при сроке хранения 10-20 лет значения абсо-

лютной выживаемости и времени выживания спермиев были ниже в среднем на 12% ($p < 0,05$), чем у быков украинской чёрно-пёстрой (УЧП) молочной породы. Также следует отметить, что наблюдались высокие значения патологических форм (19,8%) и высокое количество мёртвых клеток (32,4%) у быков голштинской породы (табл. 2).

При сроке хранения 10-20 лет для сперматозоидов быков украинской красно-пёстрой (УКП) молочной породы наблюдались высокие значения прямолинейной скорости движения при высоких процентах аномальных и мёртвых клеток. В то же время у животных УЧП породы были высокие значения прямолинейно-поступательного движения и абсолютной выживаемости сперматозоидов, а также меньше патологических форм сперматозоидов [10].

Установлено, что при сроке хранения 10-20 лет активность и количество мёртвых сперматозоидов быков УЧП породы были выше аналогичных показателей у быков других пород в среднем на 8% ($p < 0,05$). При сравнении биологических показателей спермы быков молочных пород было отмечено, что количество аномальных сперматозоидов и процент повреждённых акросом были ниже, чем у быков голштинской породы (табл. 2).

Таблица 1

Биологические показатели размороженной спермы быков голштинской породы разного срока хранения

№	Срок хранения, лет	Активность, балл	Абсолютная выживаемость, усл. ед.	Время выживания, ч	Прямолинейная скорость движения спермия, мкм/с	Патологические формы, %	Повреждённые акросом, %	Мёртвые клетки, %
$M \pm m / C_v$								
15	10-20	5,5±0,2 19,5	18,9±0,9 30,5	4,8±0,2 15,1	59,4±1,5 21,5	19,8±0,8 12,4	22,7±0,6* 10,5	32,4±2,4 31,4
10	21-30	5,5±0,1 15,7	18,3±0,8 26,1	4,6±0,2 15,4	56,7±1,7 15,8	18,9±0,5 9,7	25,0±1,0 15,4	30,0±1,7 18,7

Примечание. * $p < 0,05$ достоверно к сроку хранения 21-30 лет.

Таблица 2

Биологические показатели размороженной спермы быков молочных пород при сроке хранения 10-20 лет

№	Порода	Активность, балл	Абсолютная выживаемость, усл. ед.	Время выживания, ч	Прямолинейная скорость движения спермия, мкм/с	Патологические формы, %	Повреждённые акросом, %	Мёртвые клетки, %
$M \pm m / C_v$								
5	Украинская чёрно-пёстрая молочная	6,1±0,2 17,4	22,0±1,2 24,5	5,4±0,2 5,8	53,8±2,6 27,8	17,8±0,4 8,5	20,7±0,4 6,5	24,1±1,4 18,6
20	Украинская красно-пёстрая молочная	5,6±0,1 15,8	20,8±0,8 27,9	5,2±0,1 16,3	61,9±1,6* 22,7	19,2±0,4 14,5	21,8±0,6 17,5	31,6±1,3* 27,5
15	Голштинская	5,5±0,2* 19,5	18,9±0,9* 30,5	4,8±0,2* 15,1	59,4±1,5 21,5	19,8±0,5* 10,4	22,7±0,6* 10,5	32,4±2,4* 31,4

Примечание. * $p < 0,05$ достоверно к украинской чёрно-пёстрой молочной породе.

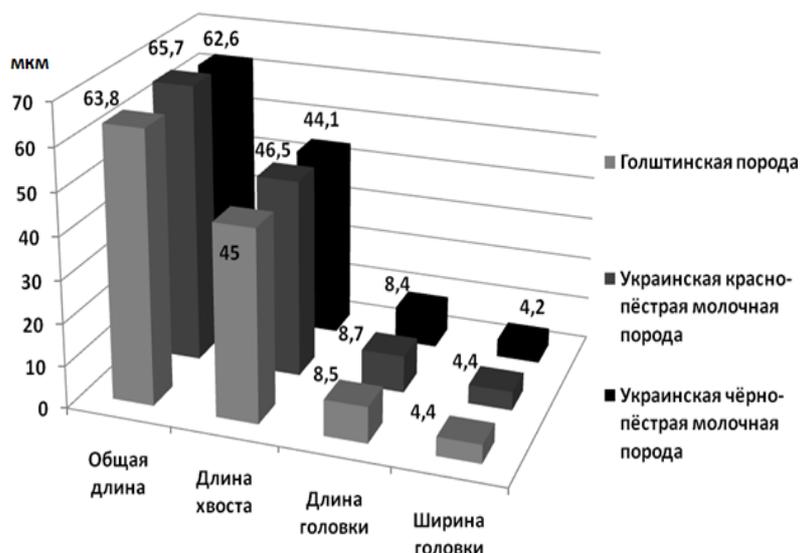


Рис. Морфометрические характеристики сперматозоидов быков молочных пород при сроке хранения 10-20 лет

При сравнении морфометрических характеристик сперматозоидов обнаружено, что наименьшей длиной головки и хвоста характеризовались спермии производителей украинской чёрно-пёстрой молочной породы при сроке хранения 10-20 лет, в среднем на 2,5% меньше, в сравнении с другими породами. Длина спермиев у быков данной породы была короче на 4,7%, чем у быков украинской красно-пёстрой молочной породы ($p < 0,05$) (рис.).

Корреляционным анализом установлено, что скорость движения взаимосвязана с активностью сперматозоидов ($r = 0,47$) ($p < 0,05$), абсолютной выживаемостью ($r = 0,43$) ($p < 0,05$) и морфологическими характеристиками ($r = -0,23$) ($p > 0,05$). Также имели место положительная связь между количеством патологических и мёртвых сперматозоидов ($r = 0,5$) ($p < 0,05$) и процентом повреждённых акросом ($r = 0,3$) ($p < 0,05$) и положительная связь между процентом мёртвых клеток и повреждённых акросом ($r = 0,51$) ($p < 0,01$).

Заключение

Установлено, что в сперме быков украинской чёрно-пёстрой молочной породы, при сроках хранения 10-20 лет наблюдался более низкий процент патологических форм, повреждённых акросом и мёртвых клеток. В сперме быков голштинской породы наблюдалось больше (на 2-8%) повреждённых акросом, мёртвых и патологических форм сперматозоидов. При хранении спермы 10-30 лет у быков молочных пород наблюдалась тенденция к увеличению повреждённых акросом, патологических и мёртвых сперматозоидов. Таким образом, полученные результаты исследований свидетельствуют о необ-

ходимости периодического мониторинга биологических показателей спермы молочных пород с целью подтверждения её пригодности для дальнейшего хранения.

Библиографический список

1. Курбатов А.Д., Платов Е.М. и др. Криоконсервация спермы сельскохозяйственных животных. – Л.: Агропромиздат; Ленское отд-ние, 1998. – 186 с.
2. Наук В.А. Криоконсервация семени животных. Криоконсервация генетических ресурсов. – Пущино, 1982. – 51 с.
3. Смирнов И.В. Состояние и перспективы длительного хранения спермы // Разведение и искусственное осеменение крупного рогатого скота: Респ. межвуз. темат. науч. сб. – Киев: Урожай, 1978. – Вып. 10. – С. 33-37.
4. Зубец М.В., Буркат В.П., Мельник Ю.Ф. и др. Методологические аспекты сохранения генофонда сельскохозяйственных животных / науч. ред. И.В. Гузев. – Киев: Аграрная наука, 2007. – 120 с.
5. Осташко Ф.И. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей. – Киев: Урожай, 1978. – 256 с.
6. Dinnyes A., Liu J., Nedambale T.L. Novel gamete storage // Reproduction, Fertility and Development. – 2007. – Vol. 19. – R. 719-731.
7. Коростелёва Н.И., Плешаков В.А. Биологические показатели глубоководной спермы разного срока хранения быков черно-пестрой породы // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – Барнаул, 2003. – № 2. – С. 238-241.
8. Soderquist L., Janson L., Larson K., Einarsson S. Sperm morphology and fertility in A.I. bulls // J. Vet. Med. A. – 1991. – Vol. 38 (7). – R. 534-543.

9. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. – М.: Колос, 1969. – 256 с.

10. Плешаков В.А. Влияние сроков хранения криоконсервированной спермы быков-производителей на её качество: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.04. – Барнаул, 2006. – 21 с.

References

1. Kurbatov A.D., Platov E.M. i dr. Kriokonservatsiya spermy sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh. – L.: Agropromizdat. Leningradskoe otdelenie, 1998. – 186 s.

2. Nauk V.A. Kriokonservatsiya semeni zhivotnykh. Kriokonservatsiya geneticheskikh resursov. – Pushchino, 1982. – 51 s.

3. Smirnov I.V. Sostoyanie i perspektivy dlitel'nogo khraneniya spermy // Razvedenie i iskusstvennoe osemnenie krupnogo rogatogo skota: Resp. mezhv. tematicheskii nauchnyi sb. – K.: Urozhai, 1978. – Vyp. 10. – S. 33-37.

4. Zubets M.V., Burkat V.P., Mel'nik Yu.F. i dr. Metodologicheskie aspekty sokhraneniya genofonda sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh

// nauchn. red. I.V. Guzev. – K.: Agrarnaya nauka, 2007. – 120 s.

5. Ostashko F.I. Glubokoe zamorazhivanie i dlitel'noe khranenie spermy proizvoditelei. – K.: Urozhai, 1978. – 256 s.

6. Dinnyes A., Liu J., Nedambale T.L. Novel gamete storage // Reproduction, Fertility and Development. – 2007. – Vol. 19. – R. 719-731.

7. Korosteleva N.I., Pleshakov V.A. Biologicheskie pokazateli glubokozamorozhennoi spermy raznogo sroka khraneniya bykov cherno-pestroi porody // Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2003. – № 2. – S. 238-241.

8. Soderquist L., Janson L., Larson K., Einarsson S. Sperm morphology and fertility in A.I. bulls // J. Vet. Med. A. – 1991. – Vol. 38 (7). – R. 534-543.

9. Plokhinskii N.A. Rukovodstvo po biometrii dlya zootekhnikov. – M.: Kolos, 1969. – 256 s.

10. Pleshakov V.A. Vliyanie srokov khraneniya kriokonservirovannoi spermy bykov-proizvoditelei na ee kachestvo // avtoref. dis. na soisk. uchen. step. kand. s.-kh. nauk: 06.01.04. – Barnaul, 2006. – 21 s.

