

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 крапчиків 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 її (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 соломинках, 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 соломинках, 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
Виживаність, 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
Виживаність, 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
Виживаність, 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 племпідприємствах 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	виживаність, 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 $\frac{\text{мг}}{\text{л}}$	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 сперміїв, 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 сперміїв 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 за 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.