

Выводы. Характер, конфигурация и расположение мицелл слизи шейки матки у коров изменяется с течением полового цикла. Мицеллы слизи цервикса коров в период охоты образуют своеобразный каркас, обладающий способностью допускать быстрое внедрение спермиев в слизь, равномерное смешивание их со слизью и сохранять свою подвижность и жизнеспособность.

Место и время введения спермы животным данного вида является решаю-

щим фактором в достижении высокой плодовитости.

Из придаточных половых желез быка только луковичные обладают способностью синтезировать, депонировать и выделять небольшое количество секрета слизистого характера. В слизистой массе, которую выделяют луковичные железы, обнаруживаются нейтральные белковополисахаридные соединения, лидазоустойчивые сульфомуцины и сиаломуцины. Этот секрет не обнаруживается в составе эякулята.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Виноградов В. В.* Углеводные соединения.— В кн.: Принципы и методы гистологического анализа в патологии.— М.: Медицина, 1971, с. 58—61.
2. *Ansari A. H. and Could K. G.* Alteration of Cervical mucus Properties to Enhance fertility.— *Archives of Andrologi*, 1980, vol. 5, 1, p. 23—24.
3. *Blasco L., Sokoloski J. E., Wolf D.* A practical objective approach to the evaluation of sperm and cervical musus in humanus.— *Fertility and sterility*, 1979, vol. 31, 7—8, p. 55—60.
4. *Kremer J., Jages S.* The sperm-cervical musus contact test: A preliminary repost.— *Fertility and Sterilytu*, 1976, vol. 27, 3, p. 335—340.
5. *Shill W.-B.* Die Bedeutung der cervux uberi fur die Fertilitat.— *Dtsdi med. Wochenschr* 1974, 99, 20, S. 1095—1098.

Получена редколлегией 13.04.84.

УДК 636.2.082.31:591.463.1:547.466

О ВЗАИМОСВЯЗИ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА И ПОДВИЖНОСТИ СПЕРМИЕВ БЫКОВ

Г. С. ШАРАПА, канд. биол. наук
М. Д. ШУСТОВСКАЯ, науч. сотр.

УкрНИИ разведения и искусств. осеменения круп. рогатого скота

Известно, что на породные и продуктивные качества животных большое влияние оказывают производители, особенно при использовании метода искусственного осеменения. В связи с этим важное значение имеет полноценность спермы, ее устойчивость при технологической обработке и использовании. Вот почему глубокое изучение физиологических и биохимических процессов, происходящих в сперме и, особенно, в спермиях представляется весьма актуальным.

По химическому составу сперма представляет биологическую жидкость, которая у быков состоит из воды (90,5 %) и сухого вещества (9,5 %), включающего 4,7 % белка, 1,3 % липидов, большое количество свободных аминокислот и др. Основу всех жизнен-

ных процессов спермы составляют белки, которые вступают в комплексы с другими соединениями (Милованов В. К., 1962).

Н. П. Шергин (1967) приводит аминокислотный состав спермы быка и отмечает, что зрелые спермии отличаются от незрелых большим количеством основных аминокислот и меньшим — кислых. Он указывает, что высокий уровень свободных аминокислот встречается в более концентрированной сперме с лучшей подвижностью. О взаимосвязи аминокислотного состава спермы с возрастом быков сообщает М. Д. Шустовская (1984).

На прямую связь содержания свободных аминокислот с концентрацией и процентом живых спермиев указывает А. П. Куроедов (1966). Он также пред-

полагает, что уровень этих кислот в сперме может определенным образом отражать функциональное состояние репродуктивных органов быка. Худшие по качеству эякуляты имели низкую концентрацию глутаминовой кислоты.

Некоторые исследователи (Милованов В. К., Варнавский А. Н., Наук В. А., 1972; Делеу В. Г., 1981) приводят данные о потерях аминокислот спермиями баранов и быков при охлаждении и замораживании, указывая на то, что эти потери связаны с разрушением белков плазматической мембраны и акросомы.

О значении содержания свободных аминокислот в семенной плазме быков пишут М. А. R. Ibrahim, Н. Boldizar (1981). Они подчеркивают, что высокая концентрация свободных аминокислот плазмы спермы наблюдается у быков с ее высокими лабораторными показателями (объем, подвижность, концентрация) и лучшей оплодотворяющей способностью.

Перед нами была поставлена задача изучить аминокислотный состав спермиев быков в зависимости от их первоначальной подвижности и определить возможность использования этих показателей для прогнозирующей объективной оценки качества спермы и воспроизводительной функции производителей.

Методика исследований. Для опыта использовали сперму быков черно-пестрой породы Киевского облплемобъединения. В 1983 г. исследовали 20 эякулятов с подвижностью спермиев 7—8 баллов (I группа) и 3—4 балла (II группа) со средней концентрацией около 1 млрд./мл. В 1984 г. использовали 22 эякулята (11 быков), разделив их в зависимости от подвижности спермиев (а затем с учетом выживаемости при 38 °С) на три группы: I — высокая подвижность, выживаемость и способность к замораживанию; II — хорошая подвижность, удовлетворительная выживаемость и морозоустойчивость; III — плохая подвижность (табл. 1).

Сперму от быков получали в основном в апреле — июле. Сразу же после получения и определения объема спермы, подвижности и концентрации спермиев общепринятыми методами эякулят разделяли на две части. Первую часть использовали для количественного определения аминокислот в спермиях, а вторую — для замораживания с последующим изучением подвижности и выживаемости спермиев в гранулах.

При определении 18 аминокислот, входящих в состав белка, сперму сразу же центрифугировали 30 мин при

1. Средние показатели спермы быков

Показатель	Группа		
	I	II	III
Подвижность спермиев до замораживания, баллы	7,8	7,7	5,0
Подвижность спермиев после оттаивания, баллы	4,2	3,2	—
Концентрация спермиев, млрд./мл	1,13	1,02	0,77
Выживаемость спермиев при 38 °С, ч	4,8	4,0	—
Абсолютная выживаемость спермиев при 38 °С, ед.	13,4	7,6	—

10 000 об./мин для отделения гамет от плазмы. Плазму сливали, а к полученной суспензии клеток добавляли 2—3 мл физиологического раствора и снова центрифугировали 30 мин при 10 000 об./мин. Для более полного удаления плазмы эту процедуру проделывали дважды. Отмытые клетки хранили при —196° С. Гидролиз спермиев проводили в запаянных ампулах при температуре 110 °С в течение 24 ч. Предварительно ампулы с навеской спермиев заливали 6н. HCl, замораживали, вакуумировали и запаивали. После гидролиза ампулы вскрывали, переносили содержимое в стаканчики и выпаривали на водяной бане при температуре 75—80 °С. Анализ гидролизатов спермиев на количественное содержание аминокислот проводили на аминокислотном анализаторе ААА-881.

Количество связанных аминокислот в спермиях определяли по методике Спекмана и др. (1958). В некоторых эякулятах определяли содержание свободных аминокислот — по методу Хамилтона (1962), изложенному в инструкции к аминокислотному анализатору.

Результаты исследований. Установлено, что между аминокислотным составом спермиев и их подвижностью существует определенная взаимосвязь. Так, в эякулятах с подвижностью спермиев 7—8 баллов (I группа) значительно больше аргинина ($P < 0,01$), глицина ($P < 0,05$), метионина ($P < 0,10$), а также групп кислот ($P < 0,10$) и серусодержащих ($P < 0,05$) кислот по сравнению со спермиями быков II группы (подвижность спермиев 3—4 балла). Имеются некоторые различия и по другим аминокислотам (табл. 2).

2. Аминокислотный состав спермиев по группам животных ($M \pm m$), %

Аминокислота	1983		1984		
	I	II	I	II	III
Основные:					
лизин	1,35±0,19	1,05±0,09	1,59±0,22	1,38±0,23	1,48±0,09
гистидин	0,35±0,06	0,23±0,14	0,28±0,05	0,23±0,04	0,24±0,03
аргинин	3,34±0,22	2,30±0,23	4,20±0,45	4,14±0,77	2,79±0,18
Всего	5,04±0,34	3,58±0,31	6,07±0,65	5,75±0,99	4,51±0,25
Кислые:					
аспарагиновая	1,44±0,08	1,26±0,07	1,38±0,21	1,41±0,29	1,46±0,19
глутаминовая	2,07±0,16	1,76±0,12	2,16±0,29	1,99±0,22	2,00±0,23
Всего	3,51±0,23	3,02±0,19	3,54±0,45	3,40±0,39	3,46±0,41
Серусодержащие:					
цистин	0,73±0,13	0,43±0,13	1,09±0,24	0,46±0,20	0,49±0,12
метионин	0,17±0,03	0,10±0,02	0,48±0,12	0,27±0,13	0,17±0,06
Всего	0,90±0,16	0,53±0,12	1,57±0,35	0,73±0,20	0,66±0,18
Сумма других аминокислот	12,47±0,84	10,95±0,91	13,43±1,33	12,90±1,43	11,5±0,91

Содержание свободных аминокислот в плазме спермы колеблется в широких пределах. Больше всего глутаминовой и аспарагиновой кислот, лизина, аргинина, лейцина, аланина в эякулятах с высокой подвижностью спермиев. Глутаминовой кислоты, как правило, содержится более 50 % всех остальных исследуемых аминокислот. В зависимости от качества спермы ее количество варьирует от 10—50 до 80—130 мкМоль на 100 мЛ.

Аналогичные результаты получены в опытах 1984 г. Здесь значительная разница в количестве аминокислот наблюдалась в спермиях быков I и III опытных групп. В эякулятах с низкой подвижностью спермиев обнаружено меньше аргинина (почти в 2 раза), метионина, цистина, тирозина и фенилаланина. Достоверность разницы в содержании этих аминокислот высокая ($P < 0,05$). Такая разница заметна и по отдельным группам аминокислот — основным, серусодержащим и циклическим.

Анализируя взаимосвязь между аминокислотным составом спермиев эякулятов быков I и II групп, их подвижностью и выживаемостью, мы не обнаружили заметного различия по содержанию большинства аминокислот. Однако необходимо отметить, что в спермиях эякулятов быков II группы несколько меньше основных и кислых аминокислот по сравнению с I, хотя подвижность спермиев была практически одинаковой.

В то же время установлена значительная разница в количестве серусо-

держащих аминокислот между эякулятами I и II групп быков (цистин в 2,3 раза, а метионин в 1,7 раза меньше). Различие это статистически достоверно ($P < 0,05$). По-видимому, этим объясняется тот факт, что спермии быков I группы сохраняли лучше свою жизнеспособность при температуре 38 °С. Абсолютная выживаемость спермиев составила 13,4 и 7,6 (см. табл. 1). Ведь известно, что цистин и метионин содержатся в основном в оболочке спермиев и входят в сложный липопротеидный комплекс мембран спермиев. Может быть, с большим содержанием аминокислот и связана лучшая морозостойкость спермиев эякулятов быков I группы. Подвижность их после оттаивания в среднем составила 4,2 балла, а в эякулятах быков II группы — 3,2.

Таким образом, исследованиями установлена определенная взаимосвязь между аминокислотным составом спермиев, их подвижностью и выживаемостью, что может быть использовано в дальнейшем для научных разработок метода прогнозирования качества спермы и др.

Выводы. Существует прямая зависимость между подвижностью спермиев быков и содержанием в них аминокислот, особенно основных и серусодержащих. В эякулятах с подвижностью 7—8 баллов содержится в среднем 4,99—6,07 % основных аминокислот и 0,88—1,58 % серусодержащих, а при подвижности 3—5 баллов — соответственно 4,27—4,46 и 0,36—0,66 мг%.

От количественного соотношения аминокислот в спермиях в значительной

степени зависит выживаемость и устойчивость их при технологической обработке. В этом основную роль, по-видимому, играют серосодержащие аминокислоты, входящие в состав оболочки спермиев. При наличии этих кислот в

среднем 1,58 % абсолютная выживаемость спермиев составила 13,4, а при 0,73 % — только 7,6 ед., подвижность спермиев после замораживания — оттаивания была в среднем 4,2 и 3,2 балла.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Делеу В. Г. Изменение аминокислотного состава гамет быков-производителей при низких и ультранизких температурах.— В кн.: Тез. докл. II съезда физиологов Молд. ССР. Кишинев, 1981, с. 129—130.
2. Куроедов А. П. Свободные аминокислоты и качество спермы быков-производителей.— М.: Изд. Ун-та дружбы народов им. П. Лумумбы, 1966, т. 14, с. 246—255.
3. Милованов В. К. Биология воспроизведения и искусственное осеменение животных.— М.: Сельхозиздат, 1962.—696 с.
4. Милованов В. К., Варнавский А. Н., Наук В. А. О природе криогенных повреждений живчиков барана.— В кн.: Технология искусственного осеменения и биология воспроизведения сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1972, с. 157—158.
5. Шергин Н. П. Биохимия сперматозондов сельскохозяйственных животных.— М.: Колос, 1967.—238 с.
6. Шустовская М. Д. Аминокислотный состав спермиев молодых быков.— В кн.: Пути ускорения реализации Продовольственной программы. Днепропетровск: Облполиграфиздат, 1984, с. 63—65.
7. Ibrahim M. A. R., Boldizar H.— Studies on free amino acid content in seminal plasma of i.a. bulls of different performance.— Acta veterinaria academiae scientiarum Hungaricae, t. 29 (3), p. 263—269.

Получена редколлегией 29.11.84.

УДК 636.082.4.53

ВЛИЯНИЕ СБАЛАНСИРОВАННОГО СОЛЕВОГО РАСТВОРА НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СПЕРМИЕВ БЫКА¹

В. В. СЛУЖАВАЯ, асп.
УСХА

В селекции крупного рогатого скота одним из важных вопросов является интенсификация воспроизводства животных. Среди разрабатываемых подходов (транслокация зигот, клонирование) наиболее перспективным представляется оплодотворение *in vitro* культивируемых ооцитов убойных коров, что позволит получить большое количество потомков от выдающихся по продуктивности особей (Эрнст Л. К. и др., 1983; Недава В. Е. и др., 1983; Thibault С., 1970).

В этой проблеме большой интерес представляет моделирование процессов

капацитации и акросомной реакции спермиев, которые в естественных условиях происходят по мере их продвижения в половых путях самки. Имеющиеся данные свидетельствуют, что только после таких преобразований акросомы спермиев приобретают способность к оплодотворению (Austin С. R. 1951; Chang М. М. С., 1951, Iritani А., Niwa К., 1978, и др.).

Капацитацию спермиев *in vitro* моделируют путем их инкубации в солевых растворах. Однако еще не ясны механизмы капацитации и акросомной реакции. Предложено большое количе-

¹ Научный руководитель — доктор биологических наук И. В. Смирнов