

УДОСКОНАЛЕНИЙ СПОСІБ КРІОКОНСЕРВАЦІЇ СПЕРМИ БУГАЇВ

Запропоновано склад нових розріджувачів для сперми бугаїв і проведено пошук оптимальних режимів обробки сперми при використанні цих розріджувачів.

Бугаї, кріоконсервація, сперма, заморожування, розріджувач

Сучасні технології заморожування сперми бугаїв забезпечують виживання лише 45–50% спермій [2]. Тому пошук умов, які б забезпечили максимально можливе виживання їх після заморожування, все ще залишається актуальним.

В удосконаленні методу кріоконсервації спермій важливу роль відіграють декілька факторів: склад розріджувачів, спосіб розрідження, період еквілібрації, режими заморожування і відтаювання.

У діючій інструкції висвітлено різні режими (температура та експозиція) заморожування сперми на фторопластовій пластині при мінус 170–180°C і на сухому льоду (–79°C) з використанням лактозо-жовтково-гліцеринового розріджувача (ЛГЖ) [1]. При розбавленні сперми одним ЛГЖ залежно від кратності розрідження спермії оточує різне за концентрацією розчинених речовин і за співвідношенням між гліцерином та іншими осмотично активними речовинами середовище [4]. Розроблені ним методики складання рецептів розріджувачів дають змогу (на відміну від розбавлення еякулятів одним ЛГЖ) отримати в дозі необхідну кількість спермій і створити для них однакове й оптимальне для життєздатності оточуюче середовище.

Користуючись цими методиками, ми розробили лактозо-цитратно-гліцериново-жовтковий розріджувач (основний), який у комплексі з іншим коректуючим розріджувачем дає можливість створити вищеназвані умови.

* Науковий керівник — доктор сільськогосподарських наук, професор Й.З. Сірацький.

Мета даної роботи — підібрати оптимальні режими заморожування сперми при використанні розробленого нами ЛЦГЖ-розріджувача.

Методика досліджень. Роботу проводили у ВАТ “Лубенське племпідприємство” та ВАТ “Новоград-Волинське агроплемоб’єднання”. Матеріалом дослідження була сперма бугаїв голштинської, симентальської та поліської м’ясної порід.

Розроблений нами ЛЦГЖ-розріджувач (лактоза — 10,6–11,8 г, натрій лимоннокислий тризаміщений 5,5-водний — 0,18–0,56 г, гліцерин — 6,5 мл, жовток — 20 мл, вода — 100 мл, сануючі препарати відповідно до інструкції на 100 мл води) використовували в комплексі з коректуючим лактозо-жовтковим розріджувачем (лактоза — 9,6–9,7 г, жовток — 20 мл, вода — 100 мл, сануючі препарати відповідно до інструкції на 100 мл води). Кількість розріджувачів визначали за формулами В.М. Кушніра [4].

Проведено три досліді. У першому досліді визначили оптимальну температуру замороження сперми. Свіжоотримані розділені еякуляти розбавляли спочатку первинним розріджувачем (ЛЖ) при температурі 32–34°C, а потім вторинним (ЛЦГЖ) при тій самій температурі. Після 5–6-годинної еквілібрації сперму заморожували на фторопластових пластинах при різній температурі. Для цього її накапували в лунки на пластину відразу після випаровування з неї азоту, через 2, 3, 4, 5, 6 і 7 хв. Температуру контролювали мідно-константановою термопарою. Через 24 год. сперму розморожували, ставили на інкубацію при 38°C і оцінювали за рухливістю, виживаністю та абсолютним показником виживаності (АПВ). За одержаними показниками визначали оптимальну температуру заморожування.

У другому досліді визначали оптимальний період еквілібрації розрідженої сперми. Розділені еякуляти бугаїв розбавляли спочатку первинним (ЛЖ), а потім вторинним розріджувачем (ЛЦГЖ). Розріджену сперму заморожували при визначеній оптимальній температурі після 3, 4, 5, 6 і 7 год. еквілібрації при 2–5°C. Шляхом біоконтролю визначали оптимальний період еквілібрації.

У третьому досліді визначали оптимальний спосіб розрідження сперми. Свіжоотримані розділені еякуляти розбавляли первинним розріджувачем (ЛЖ) при температурі 32–34°C, а вторинним розріджувачем — при різних температурах: 32–34°C; 16–20°C; 2–5°C. Еквілібрували сперму 5–6 год., заморожували

при температурі мінус 120–130°C. Шляхом біоконтролю визначали оптимальний спосіб розрідження.

Заключним етапом роботи було порівняння удосконаленого способу кріоконсервації сперми із способом, який застосовується на практиці. Для порівняння використали 15 розділених еякулятів бугаїв. Контрольні зразки обробляли за інструкцією, дослідні – удосконаленим способом. Через 24 год. сперму розморожували по одній гранулі в 1 мл підігрітого до 38°C 2,9%-го розчину цитрату натрію і по п'ять гранул у флаконі, що знаходився в біотермостаті при 38°C. Розморожену сперму ставили на біоконтроль і оцінювали рухливість спермійв, виживаність та абсолютний показник виживаності.

Результати досліджень. Перший показав, що кращих результатів досягнуто, коли сперму накапували в лунки через 5 хв. після випаровування з пластини азоту. Ці умови відповідають температурі мінус 120–130°C (табл. 1).

1. Визначення оптимальної температури заморожування сперми (n=10)

Температура заморожування	Рухливість, бали	Вживаність, год.	АПВ, ум. од.
Після припинення кипіння азоту	2,6 ± 0,07	4,2 ± 0,14	7,5 ± 0,47
Через 2 хв.	2,7 ± 0,09	4,3 ± 0,16	8,5 ± 0,42
» 3 »	3,0 ± 0,12	4,9 ± 0,19	10,3 ± 0,66
» 4 »	3,6 ± 0,14	5,7 ± 0,16	13,5 ± 0,80
» 5 »	4,1 ± 0,08	6,3 ± 0,22	16,8 ± 0,98
» 6 »	3,6 ± 0,17	5,7 ± 0,22	14,1 ± 1,07
» 7 »	2,9 ± 0,10	5,7 ± 0,19	9,8 ± 0,85

Кращої якості сперму отримали, коли еквілібрація тривала 5 год. (табл. 2).

2. Визначення оптимального періоду еквілібрації розрідженої сперми (n=10)

Період еквілібрації, год.	Рухливість, бали	Вживаність, год.	АПВ, ум. од.
3	3,1 ± 0,13	4,3 ± 0,16	10,1 ± 0,75
4	3,4 ± 0,15	4,9 ± 0,19	12,3 ± 0,79
5	3,9 ± 0,14	5,8 ± 0,27	15,5 ± 0,79
6	3,9 ± 0,14	5,4 ± 0,16	14,9 ± 0,75
7	3,5 ± 0,18	4,6 ± 0,22	10,9 ± 0,81

Розбавляючи розріджену сперму первинним розріджувачем при температурі 32–34°С, а вторинним — при температурі 2–5°С, одержали найкращі результати (табл. 3).

3. Визначення оптимального способу розрідження сперми (n=10)

Спосіб розрідження	Рухливість, бали	Виживаність, год.	АПВ, ум. од.
1-й	3,7 ± 0,12	5,5 ± 0,28	14,1 ± 0,87
2-й	3,8 ± 0,12	5,8 ± 0,28	14,5 ± 0,78
3-й	4,1 ± 0,09	6,3 ± 0,16	17,3 ± 0,71

Після встановлення оптимальної температури розбавлення і заморожування, а також тривалості еквілібрації провели порівняльний дослід із заморожування сперми за інструкцією і удосконаленим способом (табл. 4).

4. Порівняння якісних показників сперми, замороженої за інструкцією і удосконаленим способом (n=15)

Спосіб обробки сперми	Рухливість, бали	Виживаність, год.	АПВ, ум. од.
<i>Сперма, розморожена в 2,9%-му цитраті натрію</i>			
За інструкцією	3,6 ± 0,12	4,9 ± 0,12	12,7 ± 0,75
Удосконаленим способом	4,1 ± 0,07	6,5 ± 0,22	16,9 ± 0,78
В	> 0,99	> 0,999	> 0,999
<i>Сперма, розморожена без цитрату натрію</i>			
За інструкцією	3,7 ± 0,12	4,7 ± 0,18	12,7 ± 0,72
Удосконаленим способом	4,1 ± 0,07	6,3 ± 0,18	17,1 ± 0,70
В	> 0,99	> 0,999	> 0,999

Результати дослідження показали, що сперма, заморожена удосконаленим способом, має кращі показники, а саме: рухливість підвищилася на 11–14%, виживаність — на 32–34%, АПВ — на 33–35%.

Висновки. При використанні розроблених розріджувачів оптимальними є наступні режими обробки еякулятів: відразу після оцінки сперму слід розбавити коректуючим розріджувачем при температурі 32–35°С. Через 15 хв. розріджену сперму поставити в холодильник на 30 хв., після чого додати холодний (2–4°С) основний розріджувач. Еквілібрувати сперму 5–6 год., заморожувати у відкритих гранулах при температурі мінус 120–130°С.

Розроблений склад розріджувача для кріоконсервації сперми бугаїв і спосіб його використання порівняно з розробкою сперми за інструкцією підвищує рухливість спермій у заморожено-відталій спермі на 11–14%, виживаність — на 32–34%, АПВ — на 33–35%.

1. *Инструкция по организации и технологии работы станций и предприятий по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных.* — М.: Колос, 1981. — С. 73–90.

2. *Ковалев М.Г., Цеханович Т.В., Дробышевская Г.М.* Метод контроля за качеством замороженной спермы (быков) // Научные основы развития животноводства в БССР. — 1985. — Вып. 15. — С. 40–42.

3. *Кругляк А.П.* К вопросу определения выживаемости спермиев быков // Ускорение научно-технического прогресса — в животноводство. — Днепропетровск, 1986. — С. 184–185.

4. *Кушнір В.М.* Удосконалений спосіб обробки і кріоконсервації сперми бугаїв у відкритих гранулах і герметичних упаковках. — К.: Нива, 1996. — 62 с.

Институт розведення і генетики тварин УААН

Усовершенствованный способ кріоконсервации спермы быков.
Л.М. Гунтик. Институт разведения и генетики животных УААН.

Резюме. *Предложен состав новых разбавителей для спермы быков и проведен поиск оптимальных режимов обработки спермы при использовании этих разбавителей.*

Improved way of cryopreservation of semen of bulls. *L. Guntik.* The Institute of animal breeding and genetics UAAS.

Summary. *The structure of new diluents for semen of bulls is offered and the search of optimum regimes of processing of semen is conducted at usage of these diluents.*