

ДО ДЕРЖАВНОГО СТАНДАРТУ “СПЕРМА БУГАЇВ ЗАМОРОЖЕНА”

Викладено результати удосконалення технології кріоконсервації сперми бугаїв у необлицьованих гранулах, яка дає змогу заморожувати спермодози з пониженою концентрацією (6-8 млн) активних спермійв без зменшення їхньої запліднювальної здатності. При розробці ДСТУ на заморожену сперму пропонується ввести новий критерій контролю її якості — “запліднювальна здатність спермійв”, яку можна визначити за зміною їхніх енергетичних показників.

Сперма бугаїв, спермодоза, запліднювальна здатність, енергія спермійв, концентрація спермійв

Рівень технології кріоконсервації сперми бугаїв в Україні передбачає заморожування спермодоз з концентрацією до 15 млн активних спермійв, що і обумовлено нині діючим стандартом ГОСТ СРСР 260030-83 “Сперма быков замороженная”. За таких умов від бугая одержують за рік у середньому 19 тис. спермодоз. Для підвищення ефективності селекційної роботи вихід спермопродукції бугаїв-поліпшувачів повинен бути збільшений у 2-2,5 раза. Це можливо лише при удосконаленні найпоширенішої в Україні технології кріоконсервації сперми у вигляді необлицьованих гранул, за впровадження технологічних параметрів, які дають змогу знизити у 2-2,5 раза концентрацію спермійв у спермодозі без зниження запліднювальної здатності. Контролем якості таких спермодоз повинна бути, перш за все, оцінка їх за запліднювальною здатністю. У зв'язку з цим суттєво на-зріла необхідність створення нового Державного стандарту України на заморожену сперму, який має бути спрямований на інтенсивне використання бугаїв-поліпшувачів. Разом з тим введення нових вимог повинно бути експериментально обгрун-

© А.А. Бегма, Л.О. Бегма, 2005

тованим і гарантувати реалізацію в господарства сперми високої якості.

Завданням наших досліджень було удосконалення технологічних елементів кріоконсервації сперми бугаїв для збільшення їхньої спермопродукції високої запліднювальної здатності та експериментального обґрунтування нових вимог ДСТУ "Сперма бугаїв заморожена".

З цією метою було розроблено: новий кріоконсервант "СГЕ" для дворазового розрідження і заморожування сперми та спосіб оцінки її запліднювальної здатності, який ґрунтується на визначенні початкової і середньої енергії спермій [1].

Особливістю кріоконсерванту "СГЕ" є:

- наявність додаткового розріджувача (СГГЖЕ-1), який є осмотичним буфером для спермій, а також середовищем для підготовки клітин до охолодження і подальшого впливу кріоконсервантів та біологічно активних речовин, створює сталі умови для клітин незалежно від кратності розрідження сперми;

- наявність унікального комплексу біологічно активних речовин, які надають основному розріджувачеві (СГГЖЕ-2) додаткові властивості: впливають на цитоскелет і мембранні структури спермій, що сприяє реакції ооцит-спермій при заплідненні (полісахаридний комплекс), захищають мембрани спермій від перекисної деструкції, яка зазвичай посилюється при кріоконсервації (антиоксидантний комплекс), підвищують енергію ослаблених клітин до рівня фізіологічної норми [2].

Матеріал і методика досліджень. Дослідження проводились з 1998 р. на спермі бугаїв, що належала Київському і Полтавському облплемпідприємствам. Кожний еякулят ділили на дві частини. Першу розріджували і заморожували за технологією кріоконсервації сперми у формі необлицьованих гранул з концентрацією 15 млн активних спермій після відтаювання (контроль). Для кріоконсервації другої частини еякуляту (дослід) використовували такі технологічні елементи:

- 1) кріоконсервант "СГЕ", що складається з двох розріджувачів — "СГГЖЕ-1" (первинного) і "СГГЖЕ-2" (вторинного, або основного);

- 2) дворазове розрідження сперми: спочатку первинним, а через 30 хв — основним розріджувачами. Обидва розрідження проводили згідно з робочими таблицями так, щоб після розмо-

рожування в кожній спермодозі було 6-8 млн активних спермійв. Заморожували у формі необлицьованих гранул.

Запліднювальну здатність замороженої сперми перевіряли двома способами: теоретичний — за енергетичними показниками, які визначали інструментальним методом на лазерному аналізаторі якості сперми [1], і фактичний — на коровах і телицях після їхнього штучного осіменіння в одну охоту. Для оцінки теоретичної запліднювальної здатності показник енергії спермійв визначали відразу після розморожування сперми і повторно через 2 год її термостатування у водяній бані при 38°C. Для порівняння теоретичної і фактичної запліднювальної здатності спермійв використовували критерій χ^2 -квадрат [3].

Результати досліджень. Запліднювальна здатність спермійв — це інтегральний багатфакторний показник, зумовлений комплексом рухових факторів клітин, станом їхнього мембранного апарату, рівнем обмінних процесів. Оцінка теоретичної запліднювальної здатності спермійв ґрунтується на визначенні початкової і середньої енергії спермійв. Енергія спермійв — це комплексний руховий показник сперми, що характеризує здатність спермійв забезпечити їхню доставку до яйцеклітини і чисельно залежить від маси рухливих клітин та швидкості їхнього руху. Початкову енергію визначали відразу після розморожування. Середня енергія — це показник зміни енергії спермійв за перші 2 год їхньої життєдіяльності в оптимальних умовах. Вона залежить не лише від рухових факторів, але й від рівня обмінних процесів клітин, зумовлених станом їхніх мембранних структур. Її визначали за формулою:

$$E_c = \frac{E_0 + 2E_2}{3},$$

де E_c — середня енергія спермійв, ум. од.; E_0 — початкова енергія спермійв, ум. од.; E_2 — енергія спермійв через 2 год, ум. од.

Теоретичну запліднювальну здатність спермійв знаходили за визначеними показниками та спеціально розрахованими критеріями (табл. 1).

Результати виробничої перевірки нових технологічних елементів кріоконсервації спермодоз з низькою концентрацією (6-8 млн) активних спермійв та їхньої прогнозуючої оцінки представлено в табл. 2. Ці дані свідчать про те, що застосування

1. Критерій визначення теоретичної запліднювальної здатності розморожених спермій

Якість сперми	Енергетичні показники якості сперми, од.		Теоретична запліднювальна здатність спермій, %
	початкова енергія спермій	середня енергія спермій	
Низька	<18	<12	<55
Понижена	18-25	12-15	55-65
Середня	26-38	15-18	65-75
Висока	>38	>18	>75

Нових технологічних елементів при кріоконсервації сперми бугаїв дає змогу заморожувати спермодози з низькою концентрацією (6-8 млн) рухливих спермій без зниження їхньої якості: запліднювальна здатність такої сперми не мала статистично значущої різниці порівняно з контрольною і становила в середньому 60,7% порівняно з 57,1% на контролі. Середній показник теоретичної запліднювальної здатності сперми, замороженої обома способами, також був однаковий і перебував в одній градації — 55-65%.

Протокольні дані оцінки теоретичної запліднювальної здатності кожної серії сперми бугаїв (див. табл. 2), розрахованої за показниками середньої енергії спермій, свідчать про те, що вона в основному відповідає фактичній. У 18 серіях сперми вона встановлена точно, у 4 випадках теоретичні дані були близькими до фактичних, розбіжність сягала менше 10%. Розрахований за даними виробничої перевірки хі-квадрат ($\chi^2 = 2,76$) підтвердив високу достовірність ($p > 0,99$) відповідності фактичної запліднювальної здатності сперми теоретичній, а також те, що розбіжності носять випадковий характер. Коefіцієнт кореляції показника "середня енергія спермій" відносно фактичної заплідненості телиць становив:

$$r = +0,768 \pm 0,121 \text{ при } p < 0,001.$$

Висновки. 1. Використання нових технологічних елементів кріоконсервації спермодоз з пониженим числом спермій дає змогу збільшити вихід замороженої спермопродукції більш ніж

14

2. Запліднювальна здатність сперми бугаїв, замороженої за новими технологічними елементами (протокольні дані)

Кличка бугая	Контрольний спосіб				Дослідний спосіб				
	конц. активн. сперм. в с/д, млн	середня енергія сперм., ум. од.	Запліднювальна здатність спермій, %		конц. активн. сперм. в с/д, млн	середня енергія сперм., ум. од.	Запліднювальна здатність спермій, %		
			теоретично	фактично			теоретично	фактично	
Сонет	16,0	11,6	>55	50*	8	13,8	55-65	68,8	
Марсель (15.04)	15,0	14,7	55-65	60*	6,0	17,4	65-75	77,1	
Марсель (22.04)	13,9	7,38	>55	54*	6,6	7,32	<55	51,4*	
Мілорд	15,0	11,8	>55	53,1*	7,2	11,9	<55	54,3*	
Марал	15,0	14,2	55-65	59,4*	8,0	20,2	>75	70,0*	
Снігур	15,0	17,3	65-75	72,7*	8,0	19,1	>75	70,3*	
Лакей	15,0	9,9	<55	40*	7,5	10,7	<55	42,4*	
Аджей	15,0	14,0	55-65	61,3*	7,5	15,2	65	64,5*	
Ягуар	15,0	11,8	<55	50,0*	7,5	11,0	>55	45,5*	
Морж	15,0	11,0	>55	45,7*	7,5	7,5	<55	42,8*	
Дим	15,0	17	65-75	81,8	7,5	18,0	>75	80,9	
У середньому	15,0	12,8±0,9	55-65	57,1±3,61	7,42	13,8±1,36	55-65	60,7±4,2	

* Фактична заплідненість телиць повністю відповідає прогнозованій теоретичній запліднювальній здатності сперми.

удвічі при збереженні її високої запліднювальної здатності, а відтак раціонально використовувати наявний генетичний матеріал в Україні.

2. Метод контролю замороженої спермопродукції бугаїв за показниками “запліднювальна здатність спермійв”, який ґрунтується на визначенні середньої енергії, дає диференційовану оцінку її якості і може бути введений до нового Державного стандарту України на заморожену сперму.

1. Патент України № 53719 / М.В. Зубець, В.П. Буркат, А.А. Бегма, Л.О. Бегма // Спосіб оцінки запліднювальної здатності сперми. – Опубл. 17.02.2003. – Бюл. № 2.

2. Патент України № 10894 / В.П. Буркат, Л.О. Бегма, А.А. Бегма, М.І. Іванченко // Середовище для розбавлення і заморожування сперми бугаїв. – Опубл. 29.12.99. – Бюл. №8.

3. Рокицкий П. Ф. Основы вариационной статистики для биологов. – Минск, 1961. – 220 с.

К ГОСУДАРСТВЕННОМУ СТАНДАРТУ “СПЕРМА БЫКОВ ЗАМОРОЖЕННАЯ”. А.А. Бегма, Л.А. Бегма

Изложены результаты усовершенствования технологии криоконсервации спермы быков в необлицованных гранулах, которая позволяет замораживать спермодозы с пониженной концентрацией (6-8 млн) активных спермиев без уменьшения их оплодотворяющей способности. При разработке Государственного стандарта Украины на замороженную сперму предлагается ввести новый критерий контроля её качества — “оплодотворяющая способность спермиев”, которую можно определять по изменению их энергетических показателей.

Сперма быков, спермодоза, оплодотворяющая способность спермиев, энергия спермиев, концентрация спермиев

TO STATE STANDARD “FROZEN SPERM OF BULLS”. А.А. Begma, L.A. Begma

*The results of improvement of technology criopreservation of bulls sperms in not reveted pellets are stated. It allows to freeze sperm dozes with small concentration (6-8*10⁶) motile sperm without any changes of their fertility. By development of State standard of Ukraine on frozen sperm it is offered to enter the new criterion of the control of its quality — “fertilizing capacity”, which can be determined due to the change of their energy indexes.*

Sperm of bulls, sperm doza, fertilizing capacity, energy of sperm, concentration sperm

УДК 636.082.12.082.22

М.С. БЕРДИЧЕВСЬКИЙ

Інститут біології тварин УААН

МОНІТОРИНГ ПАРАМЕТРІВ ГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ В ПОПУЛЯЦІЇ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЯК ОСНОВА РЕАЛІЗАЦІЇ ЗАКОНУ УКРАЇНИ “ПРО ПЛЕМІННУ СПРАВУ У ТВАРИННИЦТВІ”

Розроблено систему моніторингу параметрів генетичної мінливості популяцій виду BOS для різних агроєкосистем України, що ґрунтується на 18 поліморфних системах крові та молока і 12 генетично-детермінованих морфологічних ознаках.

Агроєкосистеми, моніторинг, параметри генетичної мінливості, популяції, молекулярно-генетичні маркери

Моніторинг параметрів генетичної мінливості популяцій виду BOS, як і будь-яких інших domestikованих видів, являє собою постійне відстежування і прогнозування їхньої динаміки як у часі, так і в просторі із визначенням меж допустимих змін у різних агроєкосистемах на основі фено-, імуно-, цито- та молекулярно-генетичних тестів (маркерів).

Матеріал і методика досліджень. У зв'язку з тим що поняття параметрів генетичної мінливості не досить чітко окреслене [1], нами встановлено необхідну і достатню, а тому репрезентативну вибірку означених маркерів для популяції виду BOS, що в сумарному вигляді включають 18 поліморфних систем крові та молока і 12 генетично-детермінованих морфологічних ознак у тій чи іншій популяції.

© М.С. Бердичевський, 2005

Розведення і генетика тварин. 2005. Вип 39.