

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ОЦЕНКИ НЕРВНОЙ ВОЗБУДИТЕЛЬНОСТИ ЛОШАДЕЙ ГУЦУЛЬСКОЙ ПОРОДЫ

М.И. Головач, Закарпатский институт агропромышленного производства УААН

М.М. Головач, Научно-производственная ассоциация "Племконцентр"

Доказано, что лошади с хорошим потенциалом рабочей продуктивности могут быть частично или полностью непригодны для использования из-за своего злобного характера, а также возбудительного темперамента. Контроль и оценка нервной возбудительности должны быть одним из главных критериев в селекционной работе. Установлено пригодность использованных тестов для изучения типологических особенностей нервной деятельности лошадей гуцульской породы.

COMPARATIVE ANALYSIS OF ESTIMATION SCORES OF ESTIMATION SCORES OF NERVOUS EQUILIBRIUM OF HUCUL HORSES

M.J. Holovach, M.M. Holovach

It was proved, that horses with good potential can be partly or completely useless because of malicious and excessively irritable temper. Control and valuation of nervous excitability of horses should be one of basis criterion in selection work. It was confirmed that applied tests can be useful for the estimation of nervous irritability of hucul horses and their types.

УДК 636. 082.463.5

ЗАЛЕЖНІСТЬ ЯКІСНИХ ПОКАЗНИКІВ СПЕРМИ ВІД ПОРОДИ ТА ВІКУ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ

О.Ф Гончар, С.В.Кузєбний

Черкаський інститут АПВ

У статті викладено результати досліджень морфологічних показників сперми бугаїв-плідників симентальської та голштинської порід, досліджені кількісні та якісні показники, в залежності від порядкового номеру садки, сезонності та вікової динаміки.

Бугаї-плідники, порода, сперма, морфологічні показники

Про якість сперми не можна судити враховуючи лише кількість сперматозоїдів та їх рухливість. Встановлено, що рухливість сперматозоїдів не завжди визначає здатність до запліднення. Рухливість зберігається значно довше ніж запліднювальна здатність еякуляту [1].

Наступним показником, який би міг, на думку деяких авторів, характеризувати запліднювальну здатність сперми є її морфологія [2-4]. При використанні сперми для штучного осіменіння підвищення кількості аномальних спермій веде до зниження запліднюваності. Встановлено, що, не дивлячись на невеликий відсоток патологічних спермій, існує кореляція між цим показником та запліднювальною здатністю сперми [5]. В умовах сучасного ведення господарства, застосування передових технологій відтворення сільськогосподарських тварин та збільшення обсягів штучного осіменіння, якість нативної сперми відіграє важливу прогностичну роль для подальшої її технологічної обробки [6-8].

У сперматогенезі причини з'явлення аномальних гамет пов'язують із порушеннями мітозу та мейозу. Майже всі сперматозоїди, які мають хромосомні аномалії швидко дегенерують, хоча деякі з них залишаються життєздатними тривалий час. Вплив породи, порядкового номеру садки, сезонності та вікової динаміки на морфологічні показники сперматозоїдів до кінця не вияснено.

Тому постала необхідність вивчення якісних характеристик, які мають безпосередній вплив на запліднювальну здатність сперми бугаїв-плідників симентальської та голштинської породи.

Матеріали та методи досліджень. Морфологічні дослідження сперматозоїдів проводили протягом одного року в нативній спермі буга-

їв-плідників симентальської та голштинської породи, яких утримували в умовах ВАТ НВО „Прогрес”.

Ступінь конденсації хроматину визначали при кислому забарвленні аніліновим блакитним [9] та флюорисцентним з акридиновим оранжевим [10]. Механізм дії кислого анілінового блакитного побудований на вибіркового з'єднанні з лізином, який присутній у білку незрілого ядра. При застосуванні цього методу кожен еякулят може бути індивідуально оцінений на ядерну зрілість [11].

Результати досліджень опрацьовували математичними та біометричними методами з використанням комп'ютерної техніки [12-14].

Результати досліджень. Отримані результати свідчать, що у нативній спермі голштинських плідників кількість морфологічно змінених форм нижча ніж у сименталів (табл. 1).

1. Морфологічні показники нативної сперми

у відсотках

Порода	Кількість еякулятів (n)	Патологічні форми (M±m)	Клітини з порушенням конденсації хроматину (M± m)
Симентальська	127	9,89±0,41	8,56±0,42
Голштинська	660	9,24±0,16	7,89±0,29

Дещо вищий відсоток патологічних форм сперматозоїдів у симентальських плідників пов'язаний з збільшенням кількості тварин, у яких виявлено порушення в ділянці шийки на 5 % та головки і форм з цитоплазматичною краплею на 1 %.

Хроматиновий статус сперматозоїдів, пов'язаний зі станом конденсації хроматину, що є критерієм визначення нормальної функції сперматозоїдів у тестуванні батьківського генотипу. Конденсація хроматину відіграє особливу роль при формуванні головки сперматозоїдів [15-17]. Цей процес проходить у головці придатку сім'яника і не змінюється при подальшому проходженні у статевих шляхах [18]. Тому що основною речовиною в головці сперматозоїду є хроматин, то його кількість і стан визначає форму головки, що збігається з думкою низки авторів [19-21], які зазначали, що зміни розміру та форми спермія у значному ступені пов'язані з перекомпактизацією в ньому хроматину, тоді як зміни загального вмісту ДНК не мають зв'язку з морфологічними характеристиками сперматозоїдів. В одній із робіт [22] вказується на пряму кореляцію між розпадом ДНК і низькою конденсацією хроматину, а також підвищеною чутливістю ДНК до денатурації внаслідок менш стабільного хроматину. Ступінь конденсації може бути виявлений при кислому забарвленні аніліновим блакитним [23]. Механізм дії кислого анілінового блакитного побудований на вибіркового з'єднанні з лізином, який присутній у білку незрілого ядра. У процесі дозрівання проходить зміна гістонів на аргінін-вмісні протаміни в молекулі ДНК.

Аналізуючи показники хроматинового статусу сперматозоїдів нативної сперми у залежності від породної належності бугаїв-плідників виявлено дещо вищий відсоток незрілих клітин у симентальських плідників (0,45 %).

Залежність морфологічних характеристик від інших кількісних показників сперми вивчали за методом кореляційного аналізу. Так встановлено від'ємний

зв'язок між концентрацією сперматозоїдів у одиниці об'єму і кількістю патологічних форм і клітин із „незрілим” хроматином – відповідно $r = -0,2$ ($P < 0,01$) і $r = -0,135$ ($P < 0,05$). Між іншими показниками (об'ємом, активністю) не виявлено вірогідного зв'язку. Вивчаючи вплив садки у дуплетному еякуляті, нами встановлено, що перша садка має значно кращі як кількісні, так і якісні показники (табл.2).

2. Кількісні та якісні показники сперми в залежності від порядкового номеру садки ($M \pm m$)

Номер садки	Кількість еякулятів (n)	Об'єм (мл)	Концентрація млрд/мл	Патологічні форми, %	Клітини з порушенням конденсації хроматину, %
1 садка	138	$6,09 \pm 0,16$	$1,19 \pm 0,03$	$8,54 \pm 0,31$	$7,84 \pm 0,35$
2 садка	138	$6,12 \pm 0,18$	$0,89 \pm 0,02$	$10,11 \pm 0,35$	$9,10 \pm 0,42$

Вплив садки на морфологічні показники визначені методом дисперсійного аналізу, він становив на кількість патологічних форм $\eta^2 = 0,04$ ($P < 0,001$) та клітин із порушенням конденсації хроматину $\eta^2 = 0,02$ ($P < 0,05$).

У плідників голштинської породи вивчали цитологічні показники в залежності від фенотипу (масті). При цьому встановлено, що тварини червоно-рябої масті мають значно вищу кількість патологічних клітин $10,37 \pm 0,27$ % на відміну від плідників чорно-рябої масті, у яких цей показник знаходиться на рівні $8,81 \pm 0,21$ %. Підвищення кількості аномальних форм у червоно-рябих бугаїв, можливо, пов'язане з тим, що в основному ці тварини представлені бугаями лінії Айвенго, які характеризувалися найвищими показниками морфологічних порушень. Мاستь у голштинських плідників не впливала на кількість клітин із порушенням конденсації хроматину. Так у тварин як червоно- так і чорно-рябої масті цей показник був на одному рівні – 7,9 %.

Показники морфології статевих клітин, які є кількісною ознакою, мають досить високу ступінь мінливості (табл. 3), що вказує на досить суттєвий вплив факторів зовнішнього середовища.

3. Мінливість морфологічних характеристик нативної сперми

у відсотках

Порода	Коефіцієнт варіації (C_v)	
	патологічні форми	стан хроматину
Симентальська	46,8	52,9
Голштинська	43,1	86,1

Тому з метою уточнення генетичного рівня атипового сперматогенезу було проведено аналіз впливу деяких паратипових факторів на ці показники, а саме сезон взяття сперми та вік тварин.

Аналізуючи залежність морфологічних характеристик від віку тварин (табл. 4) встановлено, що найнижчий відсоток патологічних форм спостерігали у молодих тварин, і з віком цей показник збільшується до 9,6 % у зв'язку з підвищенням інтенсивності сперматогенезу. У старих бугаїв зростання відсотка змінених форм сперматозоїдів пов'язано із затуханням сперматогенезу та старінням сперматогоній. Іншою причиною підвищення патологічних форм у старих тварин, можливо, є знижена функція апоптозу цих клітин у самому сім'янику. Також найвища кількість сперматозоїдів із незрілим хроматином виявлена в групі повновікових бугаїв, що на нашу думку є наслідком значно

інтенсивнішого використання цих тварин (2 дуплетних еякулята в тиждень), тоді як тварин інших груп використовували значно менше (1 дуплетний еякулят за тиждень).

4. Вікова динаміка морфологічних показників сперматозоїдів ($M \pm m$)

Вік	Кількість еякулятів (<i>n</i>)	Патологічні форми, %	Клітини з порушенням конденсації хроматину, %
До 3-х років	340	9,36 $\pm$ 0,21	7,94 $\pm$ 0,48
Від 3 до 8 років	332	9,58 $\pm$ 0,24	8,26 $\pm$ 0,31
Старші 8 років	131	9,90 $\pm$ 0,37	7,55 $\pm$ 0,35

Методом однофакторного дисперсійного аналізу не виявлено достовірного впливу віку на показники морфології сперматозоїдів бугаїв-плідників (на відсоток патологічних форм - $\eta^2 = 0,003$ і на стан хроматину - $\eta^2 = 0,002$).

Іншим паратиповим фактором, вплив якого вивчався на морфологічні показники сперми, був сезон року (табл.5).

5. Сезонні зміни показників морфології нативної сперми ($M \pm m$)

Сезон взяття сперми	Кількість еякулятів (<i>n</i>)	Патологічні форми, %	Клітини з порушенням конденсації хроматину, %
Зима	203	10,92 $\pm$ 0,30	5,56 $\pm$ 0,70
Весна	144	11,36 $\pm$ 0,31	4,41 $\pm$ 0,25
Літо	312	9,11 $\pm$ 0,21	9,51 $\pm$ 0,24
Осінь	175	6,85 $\pm$ 0,25	9,47 $\pm$ 0,72

З результатів, наведених у таблиці 5, видно, що концентрація атипівих сперматозоїдів знижується у літньо-осінній період, досягаючи мінімуму восени, з поступовим підвищенням у зимово-весняний період. Найвищий відсоток морфологічно змінених форм спостерігається навесні. Тоді як кількість клітин із „незрілим” хроматином, навпаки, збільшується в літньо-осінній період при її найнижчому значенні навесні. Така тенденція зберігається і в породному розрізі з невеликими відхиленнями. Так, у сименталів найвищу концентрацію патологічних форм спостерігають взимку (13,2 %) і в цей же період у них найнижча кількість клітин із порушенням конденсації хроматину – 2,78 %. Сила впливу сезону року на кількість морфологічно змінених форм становить - $\eta^2 = 0,156$ ($P < 0,001$), та на кількість клітин із порушенням конденсації хроматину - $\eta^2 = 0,117$ ($P < 0,001$).

Сезонні зміни морфологічних показників сперми [24] пов'язані з активністю епіфізу, який контролює рівень секреції мелатоніну та інших індоламінів чи поліпептидів, що здійснюють інгібуючу дію на секрецію гонадотропних гормонів гіпофізу. Зниження концентрації лютеїнізуючого і фолікулостимулюючого гормонів у крові призводить до зниження продукції стероїдів у тканині сім'яника. При цьому проходить зниження сперматогенезу, процеси анаптозу клітин проходять повноцінно і тому знижується кількість патологічних клітин, але внаслідок зниження рівня гормонів процеси дозрівання сперматозоїдів затримуються, що призводить до збільшення концентрації спермів із порушенням конденсації хроматину.

Висновки:

1. У нативній спермі голштинських плідників кількість морфологічно змінених форм нижча ніж у сименталів. Вищий відсоток патологічних форм

сперматозоїдів у симентальських плідників пов'язаний зі збільшенням кількості тварин, у яких виявлені порушення у ділянці шийки на 5 % та головки і форм із цитоплазматичною краплею на 1 %.

2. Хроматиновий статус сперматозоїдів нативної сперми у бугаїв-плідників симентальської породи має дещо вищий відсоток незрілих клітин у порівнянні з голштинськими бугаями (0,45 %). Установлено від'ємний зв'язок між концентрацією сперматозоїдів у одиниці об'єму і кількістю патологічних форм і клітин із незрілим хроматином – відповідно $r = -0,2$ ($P < 0.01$) і $r = -0,135$ ($P < 0.05$).

3. Аналіз залежності морфологічних характеристик від віку тварин свідчить, що найменший відсоток патологічних форм спостерігався у молодих тварин, і з віком цей показник збільшується до 9,6%, у зв'язку з підвищенням інтенсивності сперматогенезу, але різниця не достовірна.

4. Концентрація атипових сперматозоїдів знижується у літньо-осінній період, досягаючи мінімуму восени, з поступовим підвищенням у зимово-весняний період. У той час, як кількість клітин із „незрілим” хроматином, навпаки, збільшується в літньо-осінній період при її найнижчому значенні навесні.

Бібліографічний список

1. Кунин М.А. Исследования спермы при бесплодном браке. - Воронеж: Воронежский университет. – 1968. – 112 с.
2. Williams R. Keyes et al. W. B. Saunders. Infertility. Evaluation and Treatment / Company. - 1995.- 629 p.
3. Данилова Л.В. Ультраструктурное исследование сперматогенеза. – Москва: Наука, 1978.–102 с.
4. Cummins J.M., et. al. Labelling of living mammalian spermatozoa with the fluorescent thiol alkylating agent monobromobimane : immobilization upon exposure to ultraviolet light and analysis of acrosome status. // J. Exp. Zool. – 1986. – 237, №3. – P. 375-382.
5. Sperm morphology and fertility in A.I. bulls/ Soderquist L., Janson L., Larson K., Einarsson S. // J. Vet. Med. A. – 1991. – 38, №7. – P. 534-543.
6. Кунин М.А., Кунина Г.А. Определение морфологии спермиев // Тезисы докладов III научной конференции ЦНИЛ - Воронеж. – 1972. - с.62-64.
7. Студитский А. Н. Эволюционная морфология клетки. - Москва: Наука, 1981. – 280 с.
8. Шапиев И.Ш., Мороз Л.Г., Прокопцев В.М. Методы оценки качества спермы животных и прогнозирование ее оплодотворяющей способности // Сельскохозяйственная биология. - № 4. - 1994. - С. 114-122. Hofmann N, Hilscher B. Use of Aniline Blue to Assess Chromatin Condensation in Morphologically Normal Spermatozoa in Normal and Infertile Men // Hum Reprod. – 1991. – № 6. – P. 979-982.
9. Techniques for Selection of Normal-Chromatin Sperm Preparations/ Wang F.N., Hong T.S., Hsuing C.H.C., Karow W.G., Pesic M.C. // Arch Androl.-1991.-№ 27.– P. 87-92.
10. Hou JW. Chen D. Jeyendran RS. Sperm nuclear maturity in spinal cord-injured men: evaluation by acidic aniline blue stain //Archives of Physical Medicine & Rehabilitation. - 1995. – 76, №5. – P. 444-445.
11. Боровиков В.П., Боровиков И.П. Statistica – Статистический анализ и обработка данных в среде Windows – Москва: Информационно-издательский дом «Филинъ», 1997. – 608 с.

12. Комп'ютерні методи в сільському господарстві та біології. Навчальний посібник/ Царенко О.М., Злобін Ю.А., Скляр В.Г., Панченко С.М – Суми: Університетська книга, 2000. – 202 с.
13. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. - Москва: Колос, 1969. – 256 с.
14. Sheubeck M., Sinowats E., Wrobel R.H. Zur Chromatincondensation bei der spermiogenese // Anat. Anz. – 1984. – 156. – P. 311-312.
15. B.L.Gledhill Cytometry of Deoxyribonucleic Acid Content and Morphology of mammalian sperm// J.Dairy Sci.,66: №.12. -1983.- P. 2623-2634.
16. Changes in dioxyribonucleoprotein during spermiogenesis in the bull: increased [H3] actinomycin d binding to nuclear chromatin of morphologically abnormal spermatozoa /Gledhill B.L., et al // J. Reprod. and Fert. – 1971.– 26, №1.– P.25-38.
17. The organization of the inactive chromatin of mouse sperm /Redi C.A., et al // Cell Biol. Int. Repts. – 1986. – 10, № 3. – P. 193.
18. Chromatin cytophotometric analysis of abnormal bovine spermatozoa/ Ferrari M.R., et al // Andrologia. – 1998. – 30, № 2. – P. 85-89.
19. Dadone J.P. The nuclear status of human sperm cells// Micron. – 1995. – 26, №4. – P. 323-345.
20. Simultaneous assessment of sperm chromatin condensation and morphology before and after separation procedures: effect on the clinical outcome after in vitro fertilization /Angelopoulos T., Moshel YA., Lu L., Macanas E., Grifo JA. Krey LC. // Fertility & Sterility. - 1998. – 69, № 4. – P. 740-747.
21. Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa / Sakkas D., et al // Rev. Reprod. – 1999. – 4, № 1. – P. 31-37.
22. Hofmann N, Hilscher B. Use of Aniline Blue to Assess Chromatin Condensation in Morphologically Normal Spermatozoa in Normal and Infertile Men // Hum Reprod . – 1991. – 6. – P. 979-982.
23. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции.- Москва: Наука,1985.-205 с.

ЗАВИСИМОСТЬ КАЧЕСТВЕННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СПЕРМЫ ОТ ПОРОДЫ И ВОЗРАСТА БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ.

А.Ф.Гончар, С.В.Кузевный

Изложены результаты исследований морфологических показателей спермы быков-производителей симментальской и голштинской породы, исследованы количественные и качественные показатели, в зависимости от порядкового номера садки, сезонности и возрастной динамики.

DEPENDENCE OF HIGH-QUALITY INDEXES OF SPERM IS ON A BREED AND AGE OF BULLS-PRODUCERS

O. Gonchar , S.Kuzebniy

The results of researches of morphological indexes of sperm of bulls-producers of Simmentals and Holsteins breeds are expounded, explored quantitative and high-quality indexes, depending on index a number there are gardens, seasonality and age-old dynamics.