

КРІОКОНСЕРВАЦІЯ СПЕРМИ БУГАЇВ БЕЗАЗОТНИМ МЕТОДОМ

О.В.Соклакова, О.Б.Сушко, В.І. Мірошніченко

Інститут тваринництва УААН

Наведено дані про якісні показники і запліднювальну здатність сперми бугаїв після проведення альтернативного заморожування статевих клітин в установці КНХ-130-20.

кріоконсервація, сперма, безазотний метод, життєздатність статевих клітин

Впровадження методу кріоконсервації сперми до субнульових (-196°C) температур, одержаних при використанні одного із відомих кріоагентів, а саме, зрідженого азоту, дало змогу значно прискорити крупномасштабну селекцію стад, направлену на осіменіння маточного поголів'я спермою бугаїв-поліпшувачів. Але висока вартість зрідженого азоту, складність його одержання і доставки, потреба в спеціально обладнаних транспортних засобах, необхідність суворого дотримання техніки безпеки при роботі з азотом спричиняє незручності при його використанні та потребує нових конкурентоспроможних технологій. Однією з них є безазотна технологія, згідно з якою кріоконсервація сперми відбувається в холодильній камері пристрою КНХ-130-20, що працює на багатокомпонентній робочій суміші, яка забезпечує одержання необхідного для заморожування сперми інтервалу низьких температур. Живлення установки КНХ-130-20, як і всіх побутових пристроїв, забезпечується завдяки застосуванню промислового електричного струму. Проведені нами раніше дослідження [1] по вивченню рівня якісних показників сперми показали ефективність використання даної установки при заморожуванні сперми в різних технологічних упаковках (облицьовані і необлицьовані гранули, пайети), які використовують при розфасовці та кріоконсервації сперми в існуючих технологіях. Проте залишилася невирішеною низка питань стосовно спектру розподілу рівня біологічних показників статевих клітин по робочому об'єму холодильної камери дослідного пристрою.

Метою досліджень було вивчення якісного рівня та запліднювальної здатності сперми бугаїв-плідників у залежності від місця розташування біоматеріалу (сперми) під час кріоконсервації в робочій камері установки КНХ-130-20.

Методика. У дослідах була використана сперма бугаїв української червоно-рябої та чорно-рябої порід. Сперму після одержання, візуальної та мікроскопічної оцінки розріджували у співвідношенні 1:1 стерильним лактозо-жовтково-гліцериновим (11% розчин лактози - 63 мл; жовток - 30 мл; гліцерин - 7 мл) середовищем і остаточно через 5 хвилин до концентрації спермій 15 млн./мл. лактозо-цитрато-гліцериновим (лактоза – 6 г; натрій лимоннокислий трьохзаміщений п'ятиводний – 1,4 г; гліцерин – 5 мл; вода

дистильована – 100 мл) розріджувачем. Після розрідження сперма була розфасована в облицьовані гранули об'ємом 0,25 мл, і упакована в металеві касети, які, в свою чергу, закріплювалися в дисках спеціального пристрою (ЕКЗ) для еквілібрації та заморожування сперми. Адаптацію та еквілібрацію здійснювали при температурі $+3 - +4^{\circ}\text{C}$ при постійному повільному обертанні дисків з касетами протягом 4 годин для запобігання явищу седиментації спермій в гранулі. По закінченню цих періодів одну частину сперми заморожували безазотним методом в установці КНХ-130-20 на висоті 0, 20, 40 см від дна холодильної камери. Друга частина розрідженої сперми (контроль) була заморожена в зрідженому азоті згідно з методичними рекомендаціями по Харківській технології асептичного одержання і кріоконсервації сперми бугаїв-плідників [2]. Після закінчення процесу кріоконсервації визначали якісні показники сперми, деконсервованої при $+40^{\circ}\text{C}$ в водяній бані протягом 8 сек. Усі досліди проводили на розділених еякулятах.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили згідно з методикою варіаційної статистики [3].

Результати досліджень. Аналіз одержаних експериментальних даних свідчить про відсутність суттєвої різниці між показниками якості деконсервованої сперми, яку заморожували у зрідженому азоті при -196°C за Харківською технологією та безазотним методом в установці КНХ-130-20 на висоті 0, 20, 40 см від дна холодильної камери.

Так, життєздатність сперми в досліді після кріоконсервації на глибині 0, 20, 40 см від дна камери мала наступні значення: активність $4,8 \pm 0,2$; $5,1 \pm 0,2$ та $4,0 \pm 0,1$ балів, абсолютний показник виживаності (S a) $18,2 \pm 1,2$; $18,0 \pm 2,0$; $12,5 \pm 0,5$ умовних одиниць; виживаність (t) $6,1 \pm 0,4$; $6,0 \pm 0,3$ та $5,3 \pm 0,3$ годин, відповідно.

У контрольних зразках сперми, яку заморожували також в облицьованих гранулах згідно з Харківською технологією в зрідженому азоті, активність спермій після відтавання дорівнювала $4,5 \pm 0,1$ бали, абсолютний показник виживаності - $13,5 \pm 1,5$ умовних одиниць, виживаність - $6,0 \pm 0,2$ години.

Одержані дані відповідають діючим вимогам щодо якісного рівня замороженої сперми, придатної для проведення штучного осіменіння корів і телиць. Проте слід відмітити дещо нижчий рівень якісних показників спермій на висоті 40 см від дна робочої камери, що свідчить, на наш погляд, про нерівномірний розподіл низьких температур у камері на початковому етапі заморожування та більш високе значення температури на верхньому рівні у порівнянні з більш глибокими рівнями, ближчими до дна холодильної камери пристрою КНХ-130-20. Дослідження режимів охолодження сперми в дослідному пристрої, проведені раніше, підтверджують наше припущення. Наприклад, сперма, що знаходиться на глибині 0 і 20 см від дна камери, охолоджується до 0°C за 70 сек., а на висоті 40 см за 160 сек., швидкість охолодження до -20°C на початковому етапі кріоконсервації сперми в облицьованих гранулах, що знаходяться на

глибині 0 та 20 см від дна, становить 0,13 градусів в секунду, а на глибині 40 см процес охолодження протікає повільніше і аналогічна швидкість має значно менше значення, а саме – 0,06 градусів в секунду.

Для вивчення запліднювальної здатності сперми після її заморожування на різних рівнях холодильної камери безазотного пристрою КНХ-130-20 було заморожено 160 доз сперми бугаїв чорно-рябої датської породи. Встановлено, що рівень запліднюваності корів після осіменіння спермою, замороженою на висоті 0, 20, 40 см від дна холодильної камери не відрізнялася суттєво за величиною і становила: 0 см – 80%, 20 см – 70%, 40 см – 75%. У контролі запліднюваність тварин становила – 75%. Одержані дані свідчать про збереження життєздатності і біологічної повноцінності спермій після кріоконсервації альтернативним методом у дослідному пристрої КНХ-130–20 та можливість використання даної установки для заморожування і зберігання спермопродукції бугаїв-плідників.

Висновок. Рівень якісних показників і запліднювальної здатності деконсервованої сперми, замороженої альтернативним методом в установці КНХ-130-20 не залежить від місця розташування біоматеріалу в робочій камері під час кріоконсервації.

Бібліографічний список

- 1.Соклакова О.В., Сушко О.Б., Осташко Ф.І. Ефективність безазотної кріоконсервації сперми бугаїв-плідників //НТБ.- Х.: Інститут тваринництва УААН.-2003.-№84.- С.136–138.
- 2.Харьковская технология асептического взятия и кріоконсервации спермы быков-производителей. Метод. Рекомендации.—Х., 1990.- 47 с.
- 3.Плохинский Н.А. Математические методы в биологии.-М.: Колос, 1978.-263с.

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ СПЕРМЫ БЫКОВ БЕЗАЗОТНЫМ МЕТОДОМ

О.В. Соклакова, А.Б. Сушко, В.И. Мірошніченко

Институт животноводства УААН

Приведены данные сохранения качественных показателей и оплодотворяющей способности спермы быков после проведения альтернативного замораживания половых клеток в установке КНХ-130-20.

BULLS SPERM CRYOCONSERVATION BY NITROGEN-FREE TECHNIQUE APPLICATION

O.V.Soklakova, A.B.Sushko, V.I.Miroshnichenko

The institute of animal science UAAS

This article presents the qualitative indices of maintenance and bulls sperm fertilisation capacity data after alternative sexual cells freezing in the rig KHX-130-20.