ценных особей, носителей желаемого признака. Тесный инбридинг II-II приводит к снижению интенсивности роста телок за период от рождения до 18 мес. на 12,8 % в сравнении с аутбредними полусестрами и на 7,8 % - в сравнении с полусестрами близкого и умеренного инбридинга.

Ключевые слова: порода шароле, производители, инбридинг, сохранность молодняка, живая масса, приросты, комолость.

INBREEDING IMPACT ON GROWTH RATE OF SHAROLE HEIFERS BELONGING TO UKRAINIAN SELECTION

Pastukhova T.; Institute of animal science, NAASU

This article highlights the experimental research results of inbreeding impact on survival and growth rate of Sharole heifers belonging to Ukrainian selection. The heifers were labored due to inbred mating in Sharole herd. Close II-III and mild III-IV inbreeding expedient to be implemented in the formed animal groups. The animals were selected according to desired traits. Close II-III inbreeding results in growth rate decrease of the heifers from the birth to the 18-months old age. Growth rate was abated by 12,8% in comparison with the out-bred half-sisters. Growth intensity was reduced per 7,8% as compared with the half-sisters born via close and mild inbreeding.

Key words: Sharole breed, sires, inbreeding, survival rate of the young stock, live weight (LW), increment, hummel cow.

УДК 636.2.082.453.5

РОЗРОБКА ТЕСТІВ ПРОГНОЗУВАННЯ СТІЙКОСТІ СПЕРМИ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ ДО ДІЇ НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР

Рецензенти: док-р б. наук, професор Бугров О.Д; канд с.-г. наук Тихона Г.С.

М.С.Савельєва[*]

Інститут тваринництва НААНУ

У статті наведено результати досліджень з використання підвищених температур для прискореної оцінки якості сперми бугаїв. Запропоновано гіпертермію (45 °С)зразків для прискорення метаболічних процесів у спермі з метою прогнозування показників рухливості і виживаності та визначення придатності сперми до довготривалого зберігання у кріобанках. Розроблено два варіанти тестової технологічної обробки зразків сперми з метою використання на плепідприємствах по заготівлі спермопродукції бугаїв-плідників.

Ключові слова: **сперма бугаїв, розріджена сперма, кріоконсервація, інкубація, кріорезистентність, рухливість, виживаність, методологічні прийоми.**

У зв'язку з розвитком біотехнології відтворення, впровадженням новітніх методів лабораторної діагностики актуальним є розробка швидких методів оцінки якісних показників сперми при мінімальних затратах часу. У ряді країн впроваджено об'єктивну оцінку сперматозоїдів плідників за швидкістю їх руху, яку визначають фотометричним, комп'ютерно-цифровим методом [1-2, 7-10] та візуальним хронометричним способом. Усі ці показники мають взаємозв'язок із запліднювальної здатністю кріоконсервованої сперми плідників, але жоден із них не може бути універсальним показником для заморожування та прогнозування

[*] *Науковий керівник - кандидат с.-г. наук О.Б. Сушко*

запліднювальної здатності. Тому багато вчених пропонують надавати оцінку для відбору еякулятів, які будуть заморожуватися, та кріоконсервованій спермі за комплексом показників [3-6]. Існуючі методи для визначення основних показників (рухливість, виживаність, показник абсолютної виживаності) потребують значну кількість часу. Визначення великої кількості показників для точного прогнозування запліднювальної здатності сперми – трудоємкий процес, тому необхідність розробки прискореного тесту для оцінки сперми та прогнозування запліднювальної здатності заморожено-відталої сперми залишається актуальним завданням.

Раніше нами була показана можливість використання активізації метаболічних процесів шляхом підвищення температури інкубації по відношенню до температури тіла тварин до 45 ^{0}C [10].

Проте ці роботи стосувалися нативної і свіжорозбавленої сперми, але не було висвітлено робіт із заморожено-відталою спермою. При цьому існують проблеми визначення якості замороженої сперми та її придатності до подальшого тривалого зберігання у кріобанку племпідприємства, або визначення доцільності використання для штучного запліднення корів. А також виявлення спермопродукції з низькою кріорезистентістю і виключення її з подальшої технологічної кріообробки.

Нами було проведено дослідження на нативній і свіжорозбавленій спермі, направлені на активізацію метаболічних процесів шляхом застосування температур підвищених до 45 °С і 46 °С. Дослідження показали більшу технологічно-практичну придатність використання температури 45 °С.

Виходячи з цього, у подальшій роботі була використана температура інкубування сперми 45 °С.

Метою досліджень була розробка методів прискореного визначення якості нативної сперми і способів прогнозування її стійкості до дії низьких температур у контексті технології кріоконсервації і розробки відповідних тестів.

Матеріали та методи досліджень. Роботу проведено на базі експериментально-методичного племпідприємства відділу біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин ІТ НААНУ. У дослідах використовували сперму бугаїв-плідників української чорно-рябої, української червоно-рябої та симентальської порід. Досліди було проведено на розділених еякулятах, сперму розділяли на три частини.

Контрольні зразки сперми після розрідження середовищем № 1 (11% розчин лактози – 63,0 мл, жовток курячого яйця – 30,0 мл, гліцерин – 7,0 мл) та середовищем №2 (лактоза – 6,0 мл, натрій лимоннокислий – 1,4 мл, гліцерин – 5,0 мл, вода дистильована – 100 мл) піддавали адаптації і еквілібрації при температурі 2...4 ^{0}C з наступним заморожуванням у зрідженому азоті, а деконсервацію й інкубацію проводили в термостаті при температурі 38 °С за загальноприйнятою методикою, передбаченою діючим ДСТУ- 26030 [13]. Надалі в роботі було зроблено парний кореляційний аналіз. При цьому, аналізували результати між першою дослідною і контрольною групою, другою дослідною і контрольною групою, окремо за показниками рухливості (у балах або %) і виживаності (хвилинах і годинах), показником абсолютної виживаності (Sa).

У першій дослідній групі сперму після дослідження на якісні показники та внесення розріджувача піддавали температурній адаптації при 2...4 °С протягом 3 год, після чого заморожувалася в зрідженому азоті за Харківською технологією [11-12]. Розморожування зразків проводили у водяній бані (температ. 38-40 ^{0}C).

У другій дослідній групі сперму одразу після внесення розріджувача піддавали кріотермообробці безпосереднім зануренням термоблока в зріджений азот. Зразки першої і другої дослідних груп розморожували та інкубували при вищезгаданій підвищеній температурі (45 ^{0}C) за допомогою ультратермостата.

У дослідних групах для визначення рухливості, виживаності і показника абсолютної виживаності - сперму оцінювали з інтервалом 10 хвилин, а в контрольній групі - з інтервалом одна година.

Загальна кількість еякулятів становила 20 зразків, які після макроскопічних досліджень відповідали вимогам, що пред'являються до нативної сперми відправленої на заморожування.

Результати досліджень. Проведеними дослідженнями встановлено (таблиця) достовірне скорочення тривалості виживаності сперми щодо контролю при застосуванні технологічної обробки сперми як в режимі «еквілібрація, заморожування, деконсервація та інкубація при підвищеній температурі» (перша дослідна група), так і в режимі безадаптаційно-еквілібраційному з інкубацією при підвищеній температурі (друга дослідна група).

Якісні показники деконсервованої сперми з використанням різних технологічних прийомів (M±m)

Зразки груп	Кіль-кість зразків, n	Показник рухливості, бали (%)	Показник виживаності, хв	Показник абсолют-ної вижива-ності – Sa, (ум. од)
Заморожування при традиційній технології. Інкубація при температурі 38 ^{0}C (контрольна група)	20	4,45±0,08 (44,5%±0,8%)	540,0±19,47	28,07
Заморожування при традиційній технології. Інкубація при температурі 45 ^{0}C (1 дослідна група)	20	4,35±0,07 (43,5%±0,7%)	111,0±3,69*	9,53*
Безадаптаційно-еквілібраційне заморожування. Інкубація при температурі 45 ^{0}C (2 дослідна група)	20	3,10±0,11** (31,0%±1,1%)	58,50±3,79	4,83***

*Примітка. * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001.*

Із даних таблиці видно, що з підвищенням температури інкубації підвищується швидкість процесів обміну, а відповідно падіння рухливості та виживаності спермііів, а також показник абсолютної її виживаності. Заморожування сперми без еквілібрації достовірно знижує вихід рухливих спермііів на 1,35 бала (30,33 %) у порівнянні з контрольною групою, показник абсолютної виживаності скоротився в порівнянні з контролем в середньому у 2,94 і 5,81 раза відповідно, виживаність в годинах у порівнянні з контролем у 9,33 раза, з першим дослідом - у 1,89 раза.

У контрольній групі при традиційному заморожуванні показник виживаності 540 хв. У першій дослідній групі показник виживаності сперми в

середньому склав 111 хв або 1,85 год, у другій групі 58 хв або 0,96 год. Тобто, показник виживаності порівняно з температурою 38 °С та першою дослідною групою скоротився в 4,86 раза ($p<0,01$), а з використанням безадаптаційно-еквілібраційного заморожування скоротився в 9,23 раза ($p < 0,001$).

Встановлено тісний коефіцієнт кореляції між 1 дослідною групою та контролем, та другою дослідною і контрольною групою на рівні 0,80 і 0,73, відповідно. Можна зробити висновок, що безеквілібраційне експрес-заморожування може служити тестом прогнозування результативності заморожування сперми бугаїв, при цьому точність прогнозування може бути біля 95 %.

Виходячи з наведених даних у таблиці, побудована графічна залежність якісних показників сперми від варіанту технологічної обробки і температури інкубації. Встановлено мінімально-допустимі показники заморожено-відталої сперми, одержані при використанні гіпертермічних тестів (рисунок).

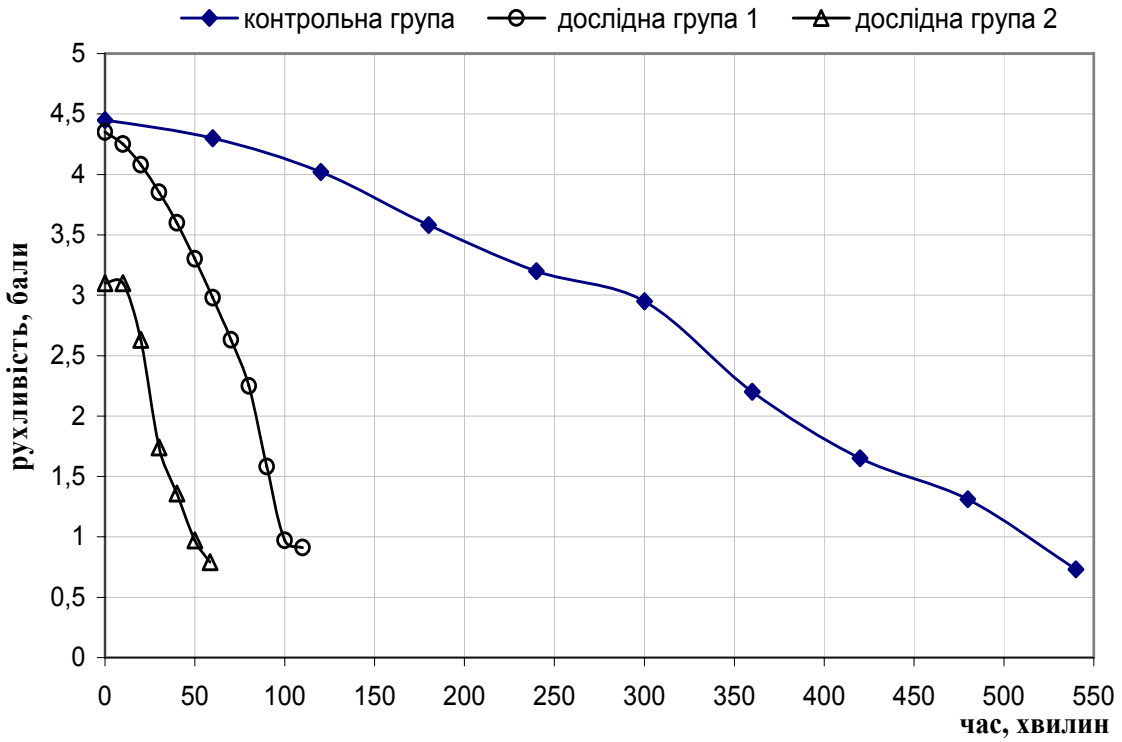

Рис. Виживаність деконсервованої сперми бугаїв при різних варіантах технологічної обробки та температури інкубації.

Встановлено, що мінімальному показнику виживаності сперми бугаїв за стандартною методикою (5 годин) відповідає показник 1 година 40 хвилин із використанням тесту «еквілібрація, заморожування, деконсервація, інкубація при підвищеній температурі» і відповідно 58 хвилин з використанням тест-прогнозу «безеквілібраційне заморожування та інкубація при підвищеній температурі». Після проведення відповідних розрахунків встановлено, що швидкість зниження рухливості деконсервованої сперми для 1 дослідної групи становила 0,039 бала/хвилину (або 0,39 % за хвилину) для 2 дослідної групи – 0,053 бала/хвилину (це 0,53 % за хвилину), відповідно. У контрольній групі цей показник становив 0,07 % за хвилину.

Висновки:

1. Із підвищенням температури інкубування заморожено-відталої сперми за температури 38 ^{0}С до 45 ^{0}С знижує її переживаність з 550 хв до 111 хв (в 4,63 раза), показник абсолютної виживаності з 28,07 до 9,53 ум.од (у 2,94 раза)

2. За рахунок активізації метаболічних процесів при гіпертермії можливе скорочення тривалості дослідження зразків із 550 хв до 111 хв.

3. Використання технологічної обробки сперми, що полягає в заморожуванні сперми без застосування температурної адаптації, із наступною її деконсервацією та інкубацією при підвищеній температурі до 45 °С, може бути використано як тест-прогноз здібності сперми бугаїв переносити процес заморожування.

2. Інкубування кріоконсервованою сперми, при температурі (45 ^{0}С) може бути використано як тест-прогноз оцінки і встановлення придатності сперми для подальшого використання.

4. Розроблено два експрес-тести для прогнозування кріорезистентності і фактичної виживаності сперми, що заготовлюється і зберігається на племпідприємстві при заготівлі сперми бугаїв.

Бібліографічний список

1.Оценка подвижности спермиев быков методом лазерной спектроскопии оптического смешения / Рустенов А.Р., Прокопцев В.М., Ланда С.Б. [и др.] //Сельскохозяйственная биология, №4.- М.,1990. - С.180-188.

2.Национальная технология замораживания и использования спермы племенных быков-производителей. - М., 2008.-160 с.

3.Курило Ю. Г. Взаимосвязь активности ферментов и концентрации метаболитов углеводного обмена в сперме хряков с качеством спермы, переживаемостью и оплодотворяющей способности спермиев: автореф. дис.на здобуття наук. ступеня док. биол. наук: спец. 03.0013 „фізіологія”/ Ю.Г. Курило. –Харків, 1982. - 49 с.

4. Милованов В.К. Биология воспроизведения и искусственное осеменение сельскохозяйственных животных / Милованов В.К. – М.,1962. – 696 с.

5. Яблонский В.А. Видовые особенности обмена веществ в сперме быка, барана и хряка / Яблонский В.А. //Сельскохозяйственная биология. – 1973. –Т.8, № 1. – С.125.

6. Курбатов А.Д. Криоконсервация спермы сельскохозяйственных животных / [Курбатов А.Д., Платов Е.В., Корбан Н.В и др.]. - Л.: Агропромиздат, 1989. - 256 с.

7. Осташко Ф.И. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей: Монография / Осташко Ф.И. – К.: Урожай, 1978. – 255 с.

8. Никитин В.Я. Практикум по акушерству, гинекологии и биотехнике размножения животных /Никитин В.Я., Миролюбов М.Г., Гончаров В.П. – М.: Россельхозиздат, 1985. – С.17-21.

9. Киреева В.А. Изучение физиологических реакций спермиев на изменение технологии криоконсервации спермы быков: автореф. дис. на получение наук. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.13 «физиология человека и животных» / Киреева Валентина Андреевна. –Харьков, 1989. – 20 с.

10. Сушко О.Б. Прискорена оцінка якості сперми бугаїв-плідників / Сушко О.Б., Савельєва М.С. //Вісник Черкаського ін-ту агропром. вироб., Вип. 5. – Черкаси, 2005.- С.188-192.

11. Сперма бугаїв нативна. Технічні умови: ДСТУ 3535-97.-[Чинний вид]. – К.:Держспоживстандарт України, 1998. – 24 с. – (Національний стандарт України).

12. Осташко Ф.И. Харьковская технология асептического взятия и криоконсервации спермы быков-производителей: [методические рекомендации]/ НПС Эмбрион"; под ред. доктора биол. наук Осташко Ф.И. - Х.,1990.- 47 с.

13. ГОСТ 26030-83. Сперма быков замороженная. Технические условия. - М., 1984.- 6 с. (Госстандарт).

РАЗРАБОТКА ТЕСТОВ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ СПЕРМЫ БЫКОВ - ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ К ДЕЙСТВИЮ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР

Савельева М., ИЖ НААН Украины

В статье приведено результаты исследований по использованию повышенных температур для ускоренной оценки качества спермы быков. Предложено гипертермию (45 °С) образцов для ускорения метаболических процессов в сперме с целью прогнозирования показателей подвижности и выживаемости, а так же определения пригодности спермы для длительного хранения в криобанках. Разработано два варианта тестовой технологической обработки образцов спермы с целью использования на плепредприятиях по заготовке спермопродукции быков-производителей.

Ключевые слова: сперма быков, разбавленная сперма, криоконсервация, инкубация, криорезистентность, подвижность, выживаемость, методологические приемы.

SERVICING BULL SEMEN VIABILITY PROGNOSTICATION AND THE METHODS ELABORATION FOR SPERM TEST UNDER SUBNORMAL THERMAL CONDITIONS

Savelyeva M.; Institute of animal science, NAASU

This article highlights the experimental research results on elevated temperatures use for express-analysis of the servicing bull semen. The control samples were exposed to elevated temperature (+45ºC) for metabolic processes acceleration in semen. Attention was focused on motility and survival spermatozoa rate. Semen adaptability and fitness for long-term storage in the freezing tanks was defined. Two variants of technological control semen sample processing were elaborated for the servicing bull semen storage and use in the breeding units.

Key words: servicing bull semen, diluted sperm, freezing preservation, incubation, freezing resistance, motility and survival rate, procedures.