

ВПЛИВ ТЕРМІНІВ ЗБЕРІГАННЯ СПЕРМИ БУГАЇВ РІДКІСНИХ І ЛОКАЛЬНИХ ПОРІД НА МОРФОЛОГІЧНІ І МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ

Ляшенко А. О.

Черкаська дослідна станція біоресурсів НААНУ

Проведено дослідження морфологічних і морфометричних характеристик сперматозоїдів бугаїв локальних, рідкісних і зникаючих порід Банку генетичних ресурсів залежно від термінів зберігання в рідкому азоті. Вивчено стан акросоми сперматозоїдів бугаїв рідкісних і локальних порід за різних термінів зберігання. Встановлено, що за терміну зберігання 21-30 років у бугаїв лебединської породи спостерігається більше спермій з грушовидною формою головки, а у бугаїв бурої карпатської – більше мертвих клітин (40 %). За терміну 31-45 років, найбільша кількість патологічних форм (24 %) спостерігалась у спермі бугаїв бурої карпатської і сірої української порід, а підвищена кількість пошкоджених акросом (26 %) у бугаїв білоголової української породи. Проведена порівняльна оцінка морфометричних показників спермій різних порід в умовах довготривалого зберігання. Встановлено, що за терміну зберігання 31-45 років були отримані вірогідно менші розміри сперматозоїдів, що свідчить про пошкодження в головці і хвості спермій внаслідок процесу заморожування і подальшого довготривалого зберігання. Визначено високо вірогідний позитивний зв'язок між кількістю патологічних форм і відсотком пошкоджених акросом ($r=0,3$) ($p<0,05$) та між кількістю мертвих клітин і відсотком пошкоджених акросом ($r=0,51$) ($p<0,01$).

Встановлено, що за довготривалого зберігання сперми спостерігається тенденція до збільшення кількості мертвих клітин, патологічних форм і пошкоджених акросом у бугаїв рідкісних і локальних порід.

кріоконсервована сперма, морфологія сперматозоїдів, морфометрія, довготривале зберігання, бура карпатська, лебединська, сіра українська, білоголова українська, порода

Рідкісні і локальні породи характеризуються цінними біологічно-господарськими особливостями та пристосовані до розведення в певних кліматичних та екологічних умовах України. Вони є носіями цінних спадкових якостей, без яких подальше генетичне поліпшення породи неможливе. Внаслідок зникнення породи зникає генофонд, що звужує різноманітність господарсько корисних ознак, а значить обмежує селекцію [1]. Повноцінна реалізація заходів зі збереження племінних ресурсів сільськогосподарських тварин забезпечується на основі створення генофондових стад у поєднанні з кріоконсервацією та довготривалим зберіганням генетичного матеріалу в кріобанках [2, 3]. Створення банку генів рідкісних і зникаючих порід є складовою частиною заходів з охорони природних багатств планети [4].

Згідно програми збереження генофонду локальних та зникаючих порід необхідно проводити експертну оцінку генетичних ресурсів кріобанку. Аналіз якості сперми бугаїв довготривалого зберігання важливо проводити для встановлення доцільності її подальшого зберігання та можливості використання в селекційному процесі [1].

Науковими дослідженнями деяких авторів встановлено, що показники рухливості та виживаності деконсервованої сперми бугаїв, залишаються на високому рівні при зберіганні навіть десятки років [5–8]. Одним з основних показників, який може характеризувати запліднюючу здатність сперми є її морфологія, в тому числі стан акросоми спермія [9]. Морфологічні зміни можуть стосуватися всіх ділянок сперматозоїда. Сперматозоїди тварин кожного виду характеризуються специфічною формою, величиною та структурою. В популяціях нормальних сперматозоїдів постійно міститься деяка кількість спермій, які

відхиляються в ту чи іншу сторону своїми розмірами. Велика різниця в розмірах спермійв може бути прийнята за патологію. Поліморфізм сперматозоїдів показує, що у одного виду тварин зустрічається не один, а два і більше типів сперматозоїдів. Більшість морфологічних порушень сперматозоїдів пов'язані між собою, і призводять до зниження рухливості та запліднюючої здатності сперми [10–12].

У літературних джерелах є інформація щодо різних термінів зберігання сперми бугаїв молочних і м'ясних порід, але даних щодо оцінки морфології і морфометрії сперматозоїдів бугаїв локальних, рідкісних і зникаючих порід немає [5, 13–15], що й обумовлює актуальність наших досліджень та становить науковий і практичний інтерес.

Мета роботи – дослідити показники морфології та морфометрії сперми бугаїв локальних, рідкісних і зникаючих порід великої рогатої худоби залежно від термінів зберігання.

Завдання досліджень – проаналізувати морфометрію спермійв, вміст мертвих і патологічних форм та стан акросоми у бугаїв локальних, рідкісних і зникаючих порід залежно від термінів зберігання.

Матеріал та методика проведення досліджень. В роботі було використано кріоконсервовану сперму 27 бугаїв бурої карпатської, лебединської, сірої і білоголової української порід. Досліджувані спермодози в Банку генетичних ресурсів ІРГТ НААН мали терміни зберігання від 10 до 45 років. Сперму бугаїв було розділено на три групи: перша – з термінами зберігання 10–20 років, друга – 21–30 років, третя – 31–45 років. Дослідження морфологічних і морфометричних характеристик сперматозоїдів бугаїв проводили за загальноприйнятою методикою в лабораторії Черкаського ПрАТ НВО «Прогрес» з використанням мікроскопа Olympus CX-31. Стан акросоми сперматозоїдів визначали шляхом фарбування зразків 50 % розчином азотнокислого срібла. Визначали кількість сперматозоїдів з нормальною і ушкодженою акросомою. Серед сперматозоїдів з ушкодженою акросомою виділяли клітини з деформованою, розірваною акросомою, без акросоми та з іншими видами пошкоджень. Підготовлені препарати сперматозоїдів аналізували при збільшенні в 600–1500 разів згідно ГОСТу 20909.3–75.

Результати досліджень. За результатами досліджень встановлено погіршення показників морфології і стану акросоми спермійв бугаїв рідкісних і локальних порід впродовж довготривалого зберігання. Кількість патологічних форм сперматозоїдів бугаїв за термінів зберігання 10–45 років перевищувала вимоги державного стандарту в середньому на 2,5 %, при чому у спермі бугаїв бурої карпатської і сірої української порід, за термінів зберігання 31–45 років, вищі в середньому на 6,3 %.

У бугаїв бурої карпатської породи, за терміну зберігання 10–20 років, спермійв з пошкодженою акросомою було менше в середньому на 2,6 % ($p < 0,05$), а з розірваною акросомою – менше на 1,1 % ($p < 0,05$), ніж за інших термінів зберігання. Визначено, що за терміну зберігання 31–45 років спостерігалось більше патологічних спермійв, в тому числі з патологією головки і хвоста, хоча різниця була не вірогідною. За терміну зберігання 21–30 років, виявлено більше мертвих спермійв (в середньому на 10 %), ніж за інших термінів зберігання ($p < 0,05$) (табл. 1). У бугаїв бурої карпатської породи, за довготривалого зберігання, показник мертвих сперматозоїдів характеризувався середньою мінливістю (C_v , % = 13,8–38,5 %), а показник пошкоджених акросом – низькою мінливістю (C_v , % = 6,2–13,2 %). Отже, впродовж довготривалого зберігання сперми спостерігається підвищення кількості мертвих клітин, патологічних форм і пошкоджених акросом у бугаїв бурої карпатської породи.

Встановлено, що за терміну зберігання 21–30 років кількість патологічних форм сперматозоїдів у бугаїв лебединської породи була нижча в середньому на 7 %, ніж у бугаїв бурої карпатської і сірої української порід, хоча різниця була не достовірною. Слід зазначити, що у спермі бугаїв бурої карпатської породи спостерігалось вірогідно більше мертвих спермійв в середньому на 14,5 %, ніж у бугаїв лебединської і сірої української порід ($p < 0,001$) (табл. 2).

Таблиця 1. Характеристика морфології і акросоми сперматозоїдів бугаїв бурої карпатської породи за різних термінів зберігання, $M \pm m / C_v$

Вид патології спермія, %	Термін зберігання, роки (n=35)		
	10-20	21-30	31-45
Мертві спермії	28,4 \pm 3,4* 38,5	40,1 \pm 1,7 13,8	31,5 \pm 2,3 22,3
Сума патологічних форм:	22,0 \pm 1,2 15,8	22,6 \pm 0,8 12,1	23,9 \pm 0,8 14,5
патології головок	6,8 \pm 0,5 19,3	7,2 \pm 0,3 15,6	7,7 \pm 0,3 12,9
патології хвостів	7,1 \pm 0,5 18,9	7,1 \pm 0,4 16,9	7,9 \pm 0,3 12,7
Пошкоджені акросоми:	20,2 \pm 0,4* 6,2	22,7 \pm 0,9 13,2	22,9 \pm 0,9 11,3
деформовані акросоми	6,0 \pm 0,4 17,1	6,1 \pm 0,4 20,9	5,4 \pm 0,3 17,4
розірвані акросоми	4,4 \pm 0,2* 13,5	5,7 \pm 0,4 20,6	5,3 \pm 0,3 16,9

Примітка: * - $p < 0,05$

За терміну зберігання 21–30 років у бугаїв лебединської породи спостерігається менша на 1,5 % кількість патологічних форм, ніж у бугаїв сірої української і бурої карпатської порід, хоча різниця не вірогідна. У бугаїв сірої української породи було менше на 3 % сперматозоїдів з пошкодженою акросомою, в тому числі нижча кількість клітин з деформованою акросомою (на 1,4 %), ніж у бугаїв бурої карпатської породи ($p < 0,05$) (табл. 2).

За вищезазначеного терміну у бугаїв лебединської породи спостерігалось більше спермій з грушвидною формою головки, а у бугаїв бурої карпатської породи серед патологій головки переважали ізольовані, а серед патологій хвоста – зламані та безхвості. Показник відсотка мертвих спермій характеризувався середнім рівнем мінливості (C_v , % = 13,8–30,7 %), а низьким рівнем мінливості – показник пошкоджених акросом сперматозоїдів (C_v , % = 7,2-14,5 %).

Таблиця 2. Характеристика морфології і акросоми сперматозоїдів бугаїв рідкісних і локальних порід за термінів зберігання 21-30 років, %

Вид патології спермія	Порода ($M \pm m / C_v$)		
	сіра українська (n=5)	бура карпатська (n=15)	лебединська (n=10)
Мертві спермії	23,4 \pm 1,6 15,1	40,1 \pm 1,7* 13,8	27,9 \pm 2,6 30,7
Сума патологічних форм:	22,1 \pm 1,0 9,8	22,6 \pm 0,8 12,1	20,8 \pm 1,4 21,5
патології головок	6,7 \pm 0,5 17,7	7,2 \pm 0,3 15,6	7,0 \pm 0,5 19,7
патології хвостів	7,1 \pm 0,3 10,0	7,1 \pm 0,4 16,9	6,6 \pm 0,5 21,6
Пошкоджені акросоми:	19,7 \pm 0,6 7,2	22,7 \pm 0,9* 13,2	21,3 \pm 1,0 14,5
деформовані акросоми	4,7 \pm 0,4 16,7	6,1 \pm 0,4* 20,9	5,4 \pm 0,3 15,5
розірвані акросоми	5,8 \pm 0,3 11,7	5,7 \pm 0,4 20,6	4,9 \pm 0,4 23,7

За терміну зберігання 31–45 років у бугаїв білоголової української породи спостерігається більша кількість спермій з пошкодженою акросомою (на 3,0 %) та більше клітин зокрема з деформованою акросомою (на 1,2 %) ($p<0,01$), ніж у бурій карпатської породи. Встановлено, що за даного терміну у бугаїв білоголової української породи нижчі показники патологічних форм в середньому на 3 % ($p<0,05$), ніж у сірої української і бурій карпатської порід. Відповідно, вірогідно нижча і кількість клітин з патологією головки (на 1,4 %) ($p<0,05$). Слід зазначити, що у бугаїв бурій карпатської породи спостерігалось більше мертвих спермій в середньому на 10,5 %, ніж у сірої і білоголової української порід ($p<0,05$) (табл. 3).

Таблиця 3. Характеристика морфології і акросоми сперматозоїдів бугаїв рідкісних і локальних порід за термінів зберігання 31-45 років, %

Вид патології спермія	Порода ($M\pm m/C_v$)		
	сіра українська (n=5)	бура карпатська (n=10)	білоголова українська (n=5)
Мертві спермії	18,9 \pm 3,0 35,6	31,5 \pm 2,3 22,3	23,0 \pm 2,6* 25,7
Сума патологічних форм:	24,4 \pm 1,1 9,8	23,9 \pm 0,8 14,5	21,1 \pm 0,9* 9,3
патології головок	7,6 \pm 0,4 11,2	7,7 \pm 0,3 12,9	6,3 \pm 0,5* 19,1
патології хвостів	8,1 \pm 0,5 12,5	7,9 \pm 0,3 12,7	7,2 \pm 0,3* 13,3
Пошкоджені акросоми:	24,2 \pm 0,7 6,4	22,9 \pm 0,9 11,3	25,9 \pm 0,5* 7,5
деформовані акросоми	6,1 \pm 0,5 19,1	5,4 \pm 0,3 17,4	6,6 \pm 0,3* 10,4
розірвані акросоми	5,8 \pm 0,3 10,1	5,3 \pm 0,3 16,9	5,3 \pm 0,2 7,3

За терміну зберігання 31–45 років у бугаїв білоголової української породи спостерігається вірогідно більша на 1,1 % кількість спермій з патологією хвоста ($p<0,05$), з пошкодженою акросомою – на 9,0 % та більше клітин з деформованою та розірваною акросомою – на 1,6 % ($p<0,001$), ніж за терміну 10–20 років (табл. 4). Показник відсотка мертвих спермій характеризувався середнім рівнем мінливості (C_v , % = 22,3–35,6 %), а показник пошкоджених акросом сперматозоїдів – низьким (C_v , % = 6,4–11,3 %).

Таблиця 4. Характеристика морфології і акросоми сперматозоїдів бугаїв білоголової української породи в розрізі термінів зберігання, $M\pm m/C_v$

Вид патології спермія, %	Термін зберігання, роки (n=15)	
	10-20	31-45
Мертві спермії	21,3 \pm 1,3 18,5	23,0 \pm 2,6 25,7
Сума патологічних форм:	19,4 \pm 1,2 19,0	21,1 \pm 0,9 9,3
патології головок	6,9 \pm 0,4 15,2	6,3 \pm 0,5 19,1
патології хвостів	6,1 \pm 0,4 23,7	7,2 \pm 0,3* 13,3
Пошкоджені акросоми:	16,9 \pm 0,5 9,6	25,9 \pm 0,5* 7,5
деформовані акросоми	4,6 \pm 0,2 13,4	6,6 \pm 0,3* 10,4
розірвані акросоми	3,7 \pm 0,2 17,8	5,3 \pm 0,2* 7,3

За результатами морфометричних досліджень, встановлено, що за терміну зберігання 31–45 років були отримані вірогідно менші розміри частин сперматозоїдів. Це, очевидно, свідчить про певні зміни і пошкодження в головці і хвості спермій внаслідок процесу заморожування і подальшого довготривалого зберігання. Так у бугаїв білоголової української породи, за терміну зберігання 31–45 років, спостерігається зменшення розмірів довжини і ширини головки та довжини тіла сперматозоїда в середньому на 7 % ($p<0,05$) (табл. 5).

Таблиця 5. Морфометрія сперматозоїдів бугаїв білоголової української породи за різних термінів зберігання, $M\pm m/Cv$

Розміри спермія, мкм	Термін зберігання, років (n=15)	
	10-20	31-45
Довжина головки	9,3±0,1 4,0	8,9±0,1* 3,3
Ширина головки	5,0±0,1 4,6	4,5±0,1* 4,3
Довжина тіла	9,7±0,2 6,4	9,1±0,4* 10,3
Довжина хвоста	47,4±1,1 7,0	45,4±1,5 7,4
Загальна довжина спермія	67,3±1,1 4,9	64,2±1,6 5,6

У бугаїв сірої української породи за терміну зберігання 21–30 років спостерігалась вища довжина хвоста і загальна довжина спермія в середньому на 12 % ($p<0,001$), ніж у бугаїв бурий карпатської і лебединської порід (табл. 6).

Таблиця 6. Морфометрія сперматозоїдів бугаїв рідкісних і локальних порід за термінів зберігання 21-30 років, $M\pm m/Cv$

Розміри спермія, мкм	Порода		
	сіра українська (n=5)	бурий карпатська (n=15)	лебединська (n=10)
Довжина головки	8,7±0,1 2,0	8,5±0,1 3,9	8,7±0,1 4,7
Ширина головки	4,2±0,1 7,6	4,4±0,1 3,5	4,6±0,1 6,1
Довжина тіла	10,3±0,4* 8,9	9,1±0,3 9,1	9,3±0,2 5,8
Довжина хвоста	50,8±0,9* 3,8	43,9±1,3 10,2	44,6±1,4 9,6
Загальна довжина спермія	70,5±0,8* 2,5	62,3±1,5 7,9	63,4±1,4 7,2

Слід зазначити, що за терміну зберігання 31–45 років, бугаї сірої української породи мали меншу довжину головки, хвоста і загальну довжину сперматозоїдів в середньому на 9,5 % ($p<0,001$), ніж за терміну 21–30 років (табл. 7). Разом з тим, за умов довготривалого зберігання, спостерігається більша довжина тіла спермій в середньому на 10 %, ніж у бугаїв інших порід. За цього терміну зберігання, бугаї білоголової української породи мали більшу довжину і ширину головки сперматозоїдів в середньому на 11 % ($p<0,01$), ніж бугаї сірої української породи (табл. 6–7).

Таблиця 7. Морфометрія сперматозоїдів бугаїв рідкісних і локальних порід за термінів зберігання 31-45 років, $M \pm m / C_v$

Розміри спермія, мкм	Порода		
	сіра українська (n=5)	бура карпатська (n=10)	білоголова українська (n=5)
Довжина головки	8,1±0,2 6,1	8,4±0,1 4,5	8,9±0,1* 3,3
Ширина головки	3,9±0,2 10,4	4,1±0,1 7,7	4,5±0,1* 4,3
Довжина тіла	10,4±0,3* 6,7	9,0±0,2 8,1	9,1±0,4 10,3
Довжина хвоста	44,6±2,1 11,5	44,2±1,4 14,5	45,4±1,5 7,4
Загальна довжина спермія	63,8±2,3 8,2	62,3±1,6 7,8	64,2±1,6 5,6

У бугаїв бурої карпатської породи в процесі довготривалого зберігання спостерігається зниження довжини і ширини головки спермія в середньому на 10,5 % ($p < 0,001$) та довжини хвоста – на 12 % ($p < 0,05$), ніж за терміну 10–20 років. Відповідно нижчою на 10 % була і загальна довжина спермія ($p < 0,01$) (табл. 8).

Для різних показників, що характеризують розміри сперматозоїда характерний низький рівень мінливості (C_v , % = 2,0–14,5 %). При вимірюванні розмірів спермія більш стабільним показником є довжина головки (C_v , % = 2,0–6,1 %), а більш варіабельним – довжина хвоста сперматозоїда (C_v , % = 3,8–14,5 %).

Таблиця 8. Морфометрія сперматозоїдів бугаїв бурої карпатської породи за різних термінів зберігання, $M \pm m / C_v$

Розміри спермія, мкм	Термін зберігання, років (n=35)		
	10-20	21-30	31-45
Довжина головки	9,2±0,1* 3,6	8,5±0,1 3,9	8,4±0,1 4,5
Ширина головки	4,7±0,1* 3,8	4,4±0,1 3,5	4,1±0,1 7,7
Довжина тіла	9,3±0,3 10,7	9,1±0,3 9,1	9,0±0,2 8,1
Довжина хвоста	50,0±1,7* 9,9	43,9±1,3 10,2	44,2±1,4 14,5
Загальна довжина спермія	69,4±1,5* 6,0	62,3±1,5 7,9	62,3±1,6 7,8

Висновки. Встановлено, що за умов довготривалого зберігання спостерігались вищі за норму значення патологічних форм сперматозоїдів у бугаїв рідкісних і локальних порід, в середньому на 2,5 %, при чому у спермі бугаїв бурої карпатської і сірої української порід, за термінів зберігання 31–45 років, вищі в середньому на 6,3 %.

Отже, спостерігається тенденція до зниження якості сперми, що зберігалася 31–45 років, зокрема: збільшення відсотку патологічних (до 24,4 %) і мертвих форм (до 40,0 %), пошкодження акросоми сперміїв (до 26 %). Таким чином, отримані результати свідчать про важливість аналізу показників сперми бугаїв локальних, рідкісних і зникаючих порід для встановлення її придатності для подальшого зберігання та можливості використання в селекційному процесі.

За результатами морфометричних досліджень, встановлено, що за довготривалого зберігання сперми відбувається зменшення розмірів частин сперматозоїдів внаслідок їх

можливого пошкодження, а також спостерігається вірогідна міжпородна різниця за розмірами спермій.

Кореляційним аналізом визначено високо вірогідний позитивний зв'язок між кількістю патологічних форм і відсотком пошкоджених акросом ($r=0,3$) ($p<0,001$) та позитивний зв'язок між кількістю мертвих клітин і відсотком пошкоджених акросом ($r=0,51$) ($p<0,01$). Також встановлено вірогідну негативну залежність між відсотком пошкоджених акросом, кількістю патологічних і мертвих клітин та довжиною різних частин спермія ($r=-0,2$) ($p<0,05$).

Список використаних джерел

1. Програма збереження локальних та зникаючих порід сільськогосподарських тварин в Україні (згідно з вимогами ФАО). «Збереження генофонду». Інститут розведення і генетики тварин НААН – Чубинське, 2013. – 24 с.
2. Буркат В. П. Банк генетичних ресурсів – основа прискореного виведення нових та збереження локальних порід / В. П. Буркат, А. П. Кругляк // Біотехнологічні, селекційні та організаційні методи відтворення, зберігання і використання генофонду тварин: Зб. наук. пр. УААН. Нац. об'єдн. по плем. справі у тваринництві. – К., 1997. – С. 173–175.
3. Зубець М. В. Методологічні аспекти збереження генофонду сільськогосподарських тварин / М. В. Зубець, В. П. Буркат, Ю. Ф. Мельник; Наук. ред. І. В. Гузев. – К.: Аграрна наука, 2007. – 120 с.
4. Курбатов А.Д. Криоконсервация спермы сельскохозяйственных животных / А.Д. Курбатов, Е.М. Платов. – Л.: Агропромиздат. Ленинградское отделение, 1998. – 186 с.
5. Кругляк А. П. Якість замороженої сперми, що зберігалася понад 40 років / А. П. Кругляк // Розведення і генетика тварин: Міжв. тем. наук. зб. – К.: Аграрна наука, 2001. – Вип. 34. – С. 66–67.
6. Ляшенко А. О. Якісні характеристики деконсервованих сперматозоїдів бугаїв рідкісних і зникаючих порід / А. О. Ляшенко // Вісник Центру наукового забезпечення АПВ Харківської області: науково-виробничий збірник. – 2013. – № 14. – С. 196–202.
7. Осташко Ф.И. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей / Ф.И. Осташко. – К.: Урожай, 1978. – 256 с.
8. Смирнов І. В. Стан і перспективи тривалого зберігання сперми / І. В. Смирнов // Розведення та штучне осіменіння великої рогатої худоби: Респ. міжв. тематичний наук. зб. – К.: Урожай, 1978. – Вип. 10. – С. 33–37.
9. Соколовская И.И. О значении акросомы в оценке семени самцов // И. И. Соколовская, Г. Ойвадис // Животноводство. – 1981. – №9. – С. 46–47.
10. Наук В.А. Структура и функции спермиев сельскохозяйственных животных при криоконсервации. – К.: Штиинца, 1991. – 199 с.
11. Clement F. Sperm morphology and fertility / F. Clement, Y. Ladonnet, M. Magistrini // Anim. Reprod. Sci. – 2001. – № 68. – P. 362–363.
12. Johnson W.H. The significance to bull fertility of morphologically abnormal sperm / W.H. Johnson // Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. – 1997. – № 13. – P. 255–270.
13. Дмитраш М. А. Якість та запліднювальна здатність замороженої сперми бугаїв залежно від тривалості її зберігання в рідкому азоті / М. А. Дмитраш // Розведення та штучне осіменіння великої рогатої худоби: Респ. міжв. тематичний наук. зб. – К.: Урожай, 1978. – Вип. 10. – С. 37–39.
14. Ляшенко А. О. Морфологічний аналіз сперми бугаїв довготривалого зберігання / А. О. Ляшенко // Вісник Полтавської державної аграрної академії. 2014. – № 1. – С. 130–133.
15. Dinnyes A. Novel gamete storage / A. Dinnyes, J. Liu, T. L. Nedambale // Reproduction, Fertility and Development. – 2007. – № 19. – P. 719–731. – Режим доступу: www.publish.csiro.au/journals/rfd.

References

1. Program of preservation the local and endangered breeds of farm animals in Ukraine (according to the requirements of FAO). "Conservation of the gene pool." Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS. Chubinskoe, 2013. 24.
2. Burkat VP., Krugl'ak AP. 1997. Bank of genetic resources - the basis for accelerated development of new and preservation of local breeds. Biotechnology, breeding and organizational methods of reproduction, storage and use of the gene pool of animals: Coll. sciences. Av. UAAN. Nat. r-tion to breed. case of livestock. 173–175.
3. Zubec MV, Burkat VP, Mel'nik YF. Methodological aspects of gene pool preservation of farm animals. Agricultural Science. 2007. 120.
4. Kurbatov AD, Platov EM. Cryopreservation of semen the farm animals. Agropromizdat. Lenynhradskoe otdelenie. 1998. 186.
5. Krugl'ak AP. Quality frozen semen that was stored for more than 40 years. Animal Breeding and Genetics. 2001. 34: 66–67.
6. Lyashenko AA. Qualitative characteristics defrosting of bull sperm rare and endangered species. Newsletter scientific support APV Kharkiv region: Research and Production Yearbook. 2013. 14: 196–202.
7. Ostashko FI. 1978. Deep freezing and long-term storage of sperm sires. "Harvest". 256.
8. Smirnov I. Status and prospects of long-term storage of sperm. IV Smirnov. Breeding and artificial insemination of cattle: Resp. mizhv. Theme Sciences. Zagreb. K. : Vintage, 1978. 10: 33–37.
9. Sokolovskaya II., Oivadis G. On the significance of the acrosome in the evaluation of male seed. Animal husbandry. 1981. 9: 46-47.
10. Nauk VA. Structure and function the spermatozoa of farm animals in the cryopreservation. 1991.199.
11. Clement F, Ladonnet Y, Magistrini M. 2001. Sperm morphology and fertility. Anim. Reprod. Sci. 2001. 68: 362–363.
12. Johnson WH. The significance to bull fertility of morphologically abnormal sperm. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 1997. 13: 255–270.
13. Dmytrash MA. Quality and fertility ability of frozen bull sperm depending on the duration of storage in liquid nitrogen. Breeding and artificial insemination of cattle. 1978. 10: 37–39.
14. Lyashenko AA. 2014. Morphological analysis of long-term storage of semen bulls. Journal of Poltava State Agrarian Academy. 2014. 1: 130–133.
15. Dinnyes A., Liu J., Nedambale T L. Novel gamete storage. Reproduction, Fertility and Development. 2007. 19: 719–731. www.publish.csiro.au/journals/rfd.

ВЛИЯНИЕ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ СПЕРМЫ БЫКОВ РЕДКИХ И ЛОКАЛЬНЫХ ПОРОД НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Ляшенко А. А.

Черкасская опытная станция биоресурсов НААН Украины

криоконсервированная сперма, морфология сперматозоидов, морфометрия, длительное хранение, бурая карпатская, лебединская, серая украинская, белоголовая украинская, порода

Цель исследования: изучение морфологических и морфометрических характеристик сперматозоидов быков локальных, редких и исчезающих пород Банка генетических ресурсов в зависимости от сроков хранения в жидком азоте. Изучено состояние акросомы сперматозоидов быков редких и локальных пород при различных сроках хранения.

Объект исследования: криоконсервированная сперма 27 быков бурой карпатской, лебединской, серой и белоголовой украинской пород. Исследуемые спермодозы в Банке генетических ресурсов ИРГЖ НААН имели сроки хранения от 10 до 45 лет. Нами было разделено сперму быков на три группы: первая – со сроками хранения 10–20 лет, вторая – 21–30 лет и третья – 31–45 лет. Исследование морфологических и морфометрических характеристик сперматозоидов быков проводили по общепринятой методике с использованием микроскопа Olympus CX-31. Изучали количество патологий головки, хвоста и тела, а также количество мертвых клеток.

Состояние акросомы сперматозоидов определяли путем окрашивания образцов 50 % раствором азотнокислого серебра. Определяли количество сперматозоидов с нормальной и поврежденной акросомой. Среди сперматозоидов с поврежденной акросомой выделяли клетки с деформированной, разорванной акросомой, без акросомы и другими видами повреждений. Подготовленные препараты сперматозоидов анализировали при увеличении в 600–1500 раз по ГОСТу 20909.3–75.

Результаты исследования показывают, что в условиях длительного хранения, наблюдались выше нормы значения патологических форм сперматозоидов у быков редких и локальных пород, в среднем на 2,5 %, причем в сперме быков бурой карпатской и серой украинской пород, по срокам хранения 31–45 лет, выше в среднем на 6,3 %.

Установлено, что при сроке хранения 21–30 лет у быков лебединской породы наблюдается больше спермиев с грушевидной формой головки, а у быков бурой карпатской – больше мертвых клеток (40 %). При сроке 31–45 лет, наибольшее количество патологических форм (24 %) наблюдалась в сперме быков бурой карпатской и серой украинской пород, а повышенное количество поврежденных акросом (26 %) у быков белоголовой украинской породы. Обнаружено, что при сроке хранения 31–45 лет были получены достоверно меньшие размеры сперматозоидов, что свидетельствует о повреждении в головке и хвосте спермиев в результате процесса замораживания и последующего длительного хранения. Для различных показателей, которые характеризуют размеры сперматозоида, наблюдается низкий уровень изменчивости ($C_v, \% = 2,0–14,5$ %). При измерении размеров спермия более стабильным показателем является длина головки ($C_v, \% = 2,0–6,1$ %), а более вариабельным – длина хвоста сперматозоида ($C_v, \% = 3,8–14,5$ %). Определена высоко вероятная положительная связь между количеством патологических форм и процентом поврежденных акросом ($r=0,3$) ($p<0,05$) и между количеством мертвых клеток и процентом поврежденных акросом ($r=0,51$) ($p<0,01$). Также установлено негативную зависимость между процентом поврежденных акросом, количеством патологических и мертвых клеток и длиной разных частей спермия ($r=-0,2$) ($p<0,05$).

Установлено, что при длительном хранении спермы наблюдается тенденция к увеличению количества мертвых клеток, патологических форм и поврежденных акросом у быков редких и локальных пород.

EFFECT OF STORAGE DURATION OF BOVINE SEMEN OF RARE AND LOCAL BREEDS ON MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRIC PARAMETERS

Lyashenko A. A.

Cherkassy Experimental Station of Bioresources NAAS of Ukraine

*cryopreserved sperm, semen morphology, morphometry, long-term storage,
Carpathian Brown breed, Lebedinskaya breed, Gray Ukrainian breed,
Ukrainian White-headed breed*

Objective: To study morphological and morphometric characteristics of bovine semen of local, rare and endangered breeds of the Bank of Genetic Resources, depending on storage duration in liquid nitrogen. The state of bovine sperm acrosome of rare and local breeds after different storage periods was estimated.

Study Object: cryopreserved semen of 27 bulls Carpathian Brown, Lebedinskaya, Gray Ukrainian and Ukrainian Whitehead breeds. The test semen aliquots were stored in the Bank of Genetic Resources of the Institute of Animal Breeding and Genetics of NAAS for 10 - 45 years. We grouped bovine semen into three categories: the first category had the storage life of 10-20 years, the second one – of 21-30 years, and the third one – of 31-45 years. Morphological and morphometric characteristics of bovine sperm were investigated by the standard technique using a microscope Olympus CX-31. The numbers of spermatozoid head, tail and body pathologies as well as the number of dead cells were determined.

The state of sperm acrosome was assessed by staining with 50% silver nitrate solution. The numbers of spermatozoa with normal and damaged acrosome were counted. Among spermatozoa with damaged acrosome, cells with deformed, torn acrosome, without acrosome and other types in damage were distinguished. The prepared sperm smears were analyzed at magnification of 600 - 1,500 times according to the State Standard 20909.3-75.

The study results show that after long-term storage the rates of pathological forms of spermatozoa from bulls of rare and local breeds were above normal values on average by 2.5%, notably in semen of Carpathian Brown and Gray Ukrainian bulls after 31-45-year storage the increase was on average by 6.3%.

It was found that after 21-30-year storage in bulls of Lebedinskaya breed there were more spermatozoa with a pear-shaped head, and in Carpathian Brown bulls - more dead cells (40%). After 31-45-year storage the greatest number of pathological forms (24%) was observed in semen of Carpathian Brown and Gray Ukrainian bulls, and the increased number of damaged acrosomes (26%) - in semen of White-Headed bulls. It was revealed that after 31-45 years of storage spermatozoa were significantly smaller, indicating damage to spermatozoid head and tail a result of freezing and subsequent long-term storage. For different indices characterizing spermatozoid size a low level of variation was observed ($Cv, \% = 2.0-14.5\%$). When the spermatozoid size was measured, the head length was the most stable index ($Cv, \% = 2.0-6.1\%$), and the tail length was the most variable ($Cv, \% = 3.8-14.5\%$). High positive correlations between the number of pathological forms and the percentage of damaged acrosomes ($r = 0.3$) ($p < 0.05$) and between the number of dead cells and the percentage of damaged acrosomes ($r = 0.51$) ($p < 0.01$) were established. In addition, a negative relationship between the percentage of damaged acrosomes, the number of abnormal and dead cells and lengths of different spermatozoid parts ($r = -0.2$) ($p < 0.05$) was found.

After long-term storage of semen there was an upward trend in the numbers of dead cells, pathological forms and damaged acrosomes in bulls of rare and local breeds.