

## МОРФОМЕТРІЯ СПЕРМІЇВ БУГАЇВ МОЛОЧНИХ І М'ЯСНИХ ПОРІД ЗАЛЕЖНО ВІД ТЕРМІНІВ ЗБЕРІГАННЯ

А. О. Ляшенко

Черкаська дослідна станція біоресурсів НААН

*Проведено дослідження морфометричних характеристик сперматозоїдів бугаїв молочних і м'ясних порід залежно від тривалості зберігання в рідкому азоті. За терміну зберігання 31–45 років були отримані вірогідно менші розміри сперматозоїдів, що свідчить про пошкодження в головці і хвості сперміїв унаслідок процесу заморожування і подальшого довготривалого зберігання. Встановлено, що за умов довготривалого зберігання сперми у бугаїв молочних і м'ясних порід спостерігається вірогідна міжпородна різниця за розмірами сперміїв. Визначено вірогідну залежність між фізіологічними, морфологічними параметрами і довжиною різних частин спермія. За терміну зберігання 10–20 років у бугаїв молочних порід довжина головки спермія — 8,4–8,8 мкм, довжина хвоста — 44,1–46,7 мкм, а у бугаїв м'ясних порід довжина головки спермія — 8,5–9,1 мкм, довжина хвоста — 45,5–50,0 мкм.*

Кріоконсервація і довготривале зберігання сперми є цінним інструментом для збереження генетичних ресурсів бугаїв-плідників. Це забезпечується на основі створення генофондних стад у поєднанні з кріоконсервацією та довготривалим зберіганням генетичного матеріалу в кріобанках [1]. Згідно з Програмою збереження генофонду локальних та зникаючих порід, необхідно проводити експертну оцінку генетичних ресурсів кріобанку для встановлення доцільності її подальшого зберігання та можливості використання в селекційному процесі [2].

Науковими дослідженнями деяких авторів встановлено, що показники рухливості, виживаності і морфології деконсервованої сперми бугаїв молочних і м'ясних порід, залишаються на високому рівні при зберіганні навіть десятки років [3, 4]. У своїх дослідженнях деякі автори звертали увагу на вивчення морфології сперматозоїдів бугаїв як одного з важливих показників при оцінці запліднюючої здатності [5]. А от дослідженню лінійних розмірів сперміїв бугаїв в умовах довготривалого зберігання приділялось менше уваги [6, 7]. Більшість морфологічних порушень сперматозоїдів пов'язані між собою, і приводять до зниження фізіологічних характеристик сперми. Сперматозоїди тварин кожного виду характеризуються специфічною формою, величиною та структурою. У популяціях нормальних сперматозоїдів постійно міститься деяка кількість сперміїв, які відхиляються в ту чи іншу сторону своїми розмірами. Велика різниця в розмірах сперміїв може бути прийнята за патологію [8]. У літературних джерелах є інформація щодо морфологічного стану сперми бугаїв молочних і м'ясних порід різних термінів зберігання, але даних щодо оцінки морфометричних характеристик сперматозоїдів бугаїв даних порід недостатньо [9, 10], що й обумовлює актуальність наших досліджень та становить науковий і практичний інтерес.

Метою роботи було вивчити морфометричні параметри сперміїв бугаїв молочних і м'ясних порід, залежно від термінів зберігання.

**Матеріали і методи.** У дослідженнях використовували кріоконсервовану сперму 85 бугаїв 9 порід м'ясного, молочного і комбінованого напрямків продуктивності. Термін зберігання досліджуваних спермодоз становив від 10 до 45 років. Нами було розділено сперму бугаїв на три групи: перша — з термінами зберігання 10–20 років, друга — 21–30 і

третя — 31–45 років. Дослідження морфометричних характеристик сперматозоїдів бугаїв проводили за загальноприйнятою методикою в лабораторії Черкаського ПрАТ НВО «Прогрес» з використанням мікроскопа Olympus CX-31 та окуляр-мікрометра. Підготовлені препарати сперматозоїдів аналізували при збільшенні в 600–1000 разів згідно з ГОСТ 20909.3-75. Одержані матеріали наукових досліджень обробляли методами математичної статистики засобами програмного пакету «Statistica – 6.1».

**Результати й обговорення.** За терміну зберігання 10–20 років, у бугаїв англєрської породи спостерігали дещо вищі розміри довжини головки і хвоста, ніж в інших молочних порід, хоча різниця не вірогідна. При порівнянні морфометричних характеристик спермій виявлено, що найменшу довжину головки і хвоста мали сперматозоїди бугаїв української чорно-рябої молочної породи (далі — УЧРМ), що в середньому на 2,5 % менше, ніж у бугаїв інших молочних порід. Відповідно довжина спермій у бугаїв даної породи була коротша на 4,7 % ( $p < 0,05$ ), ніж у бугаїв української червоно-рябої молочної породи (далі — УЧєРМ) (табл. 1). Слід відмітити, що за даного терміну зберігання у бугаїв молочних порід довжина головки коливалася від 8,4 до 8,8 мкм, а довжина хвоста — від 44,1 до 46,7 мкм.

Таблиця 1

**Морфометрія спермій бугаїв молочних порід за термінів зберігання 10-20 років,  $M \pm m / C_v$**

Розміри спермій, мкм / $C_v$	Породи (n=75)		
	Англєрська	УЧРМ	УЧєРМ
Довжина головки	8,8±0,1 4,2	8,4±0,1* 3,4	8,7±0,1 6,0
Ширина головки	4,5±0,1 4,3	4,2±0,1* 6,7	4,4±0,1 8,3
Довжина тіла	9,3±0,2 6,2	9,5±0,2 7,5	9,7±0,1 7,2
Довжина хвоста	46,7±1,4 9,7	44,1±1,3 10,0	46,5±0,8 11,6
Загальна довжина	65,6±1,6 7,6	62,6±1,3* 7,2	65,7±0,8 8,8

Примітка: у цій і наступних таблицях: \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ , \*\*\* $P < 0,001$

У бугаїв української м'ясної породи, за терміну зберігання 10–20 років, спостерігалися менші розміри довжини і ширини головки в середньому на 6,5 % ( $p < 0,05$ ), а також коротші хвости — на 9 % ( $p < 0,05$ ), ніж у бугаїв породи лімузин (табл. 2). Слід зазначити, що за даного терміну зберігання у бугаїв м'ясних порід довжина головки коливалася від 8,5 до 9,1 мкм, а довжина хвоста — від 45,5 до 50,0 мкм.

Таблиця 2

**Морфометрія спермій бугаїв м'ясних порід за термінів зберігання 10-20 років,  $M \pm m / C_v$**

Розміри спермій, мкм / $C_v$	Породи (n=70)		
	Лімузин	волинська м'ясна	українська м'ясна
Довжина головки	9,1±0,1 2,5	8,7±0,1 5,4	8,5±0,1*** 6,9
Ширина головки	4,6±0,1 3,2	4,5±0,1 5,5	4,3±0,1* 10,7
Довжина тіла	9,3±0,3 5,8	9,6±0,2 10,1	9,6±0,2 10,2
Довжина хвоста	50,0±2,1 9,5	47,1±0,9 10,8	45,5±0,9* 11,5
Загальна довжина	69,3±2,3 7,5	66,3±1,0 8,4	64,3±1,0* 9,4

Морфометричні характеристики сперміїв бугаїв голштинської породи вірогідно не відрізнялися від цих параметрів у бугаїв інших молочних порід. За терміну зберігання 21–30 років, у бугаїв даної породи спостерігалися дещо коротші хвости (на 2 %), ніж за терміну зберігання 10–20 років (табл. 3).

Таблиця 3

**Морфометрія сперміїв бугаїв голштинської породи за різних термінів зберігання,  $M \pm m / C_v$**

Розміри сперміїв, мкм / $C_v$	Термін зберігання, років (n=65)	
	10-20	21-30
Довжина головки	8,5±0,1	8,4±0,1
	6,5	5,2
Ширина головки	4,4±0,1	4,3±0,1
	7,1	6,1
Довжина тіла	9,6±0,2	9,2±0,2
	9,3	7,3
Довжина хвоста	44,9±1,3	43,9±1,4
	11,4	10,8
Загальна довжина	63,7±1,3	62,2±1,5
	8,7	8,3

У бугаїв англєрської породи, за терміну зберігання 31–45 років, спостерігалися нижчі на 11,8 % ( $p < 0,001$ ) параметри довжини і ширини головки, менша довжина тіла і хвоста спермія в середньому на 11,2 % ( $p < 0,001$ ), ніж за терміну 10–20 років (табл. 4). Це, очевидно, свідчить про певні зміни і пошкодження в головці і хвості сперміїв внаслідок процесу заморожування і подальшого довготривалого зберігання. За даного терміну зберігання, у бугаїв породи шароле спостерігалися вищі значення довжини і ширини головки сперміїв в середньому на 8,7 % ( $p < 0,01$ ), ніж у бугаїв кіанської породи. Також у бугаїв даної породи виявилась вищою довжина тіла і хвоста сперміїв в середньому на 16 % ( $p < 0,01$ ), ніж у бугаїв кіанської породи (табл. 4). Вірогідна міжпородна різниця, можливо, пояснюється невеликою вибіркою бугаїв породи лімузин і шароле та індивідуальним впливом окремих бугаїв.

Таблиця 4

**Морфометрія сперміїв бугаїв молочних і м'ясних порід за термінів зберігання 31-45 років,  $M \pm m / C_v$**

Розміри сперміїв, мкм / $C_v$	Породи (n=20)		
	англєрська	кіанська	шароле
Довжина головки	8,1±0,2	8,0±0,2	8,7±0,1**
	5,5	6,3	3,5
Ширина головки	3,8±0,2	3,9±0,1	4,3±0,1**
	10,2	9,4	3,7
Довжина тіла	8,4±0,3	8,7±0,4	10,5±0,4**
	7,0	11,5	11,0
Довжина хвоста	40,8±1,2	43,0±1,3	50,8±1,6***
	6,5	8,4	7,0
Загальна довжина	58,1±0,9	60,4±1,7	70,8±1,4***
	3,5	8,1	4,4

У бугаїв симентальської породи в процесі довготривалого зберігання спостерігається зниження довжини тіла спермія на 10,5 % ( $p < 0,01$ ), ніж за терміну 21–30 років. Причому спостерігалася коливання довжини тіла сперміїв від 9,3 до 10,4 мкм (табл. 5).

Для різних показників, що характеризують розміри спермія, характерний низький рівень мінливості ( $C_v = 2,5–12,3$  %). При вимірюванні розмірів спермія більш стабільним показником є довжина головки ( $C_v = 2,5–6,9$  %), а більш варіабельним — довжина хвоста спермія ( $C_v = 6,5–12,3$  %).

**Морфометрія спермійів бугаїв симентальської породи за різних термінів зберігання, М±m/Сv**

Розміри спермійів, мкм / Сv	Термін зберігання, років (n=75)		
	10-20	21-30	31-45
Довжина головки	8,5±0,1 4,7	8,4±0,1 5,3	8,7±0,1* 3,4
Ширина головки	4,5±0,1 7,7	4,4±0,1 9,3	4,6±0,1 6,2
Довжина тіла	9,5±0,2 11,5	10,4±0,2 7,2	9,3±0,3** 12,0
Довжина хвоста	46,3±1,1 12,3	46,7±1,3 10,4	47,1±1,2 8,9
Загальна довжина	65,0±1,0 8,3	66,2±1,2 7,2	65,8±1,4 7,2

### В И С Н О В К И

1. За результатами морфометричних досліджень встановлено, що, за умов довготривалого зберігання сперми, у бугаїв деяких порід спостерігалася тенденція до зменшення розмірів частин спермійів внаслідок їх можливого пошкодження, а також спостерігалася вірогідна міжпородна різниця за розмірами спермійів.

2. Кореляційним аналізом визначено вірогідний позитивний зв'язок між параметрами виживаності, рухливості і розмірами спермійів ( $r=0,25$ ) ( $p<0,01$ ). Також встановлено вірогідну негативну залежність між відсотком пошкоджених акросом, кількістю патологічних і мертвих клітин та довжиною різних частин спермія ( $r=-0,2$ ) ( $p<0,05$ ).

3. Результати проведених досліджень мають поглибити теоретичні знання про лінійні розміри спермійів бугаїв молочних і м'ясних порід, за умов довготривалого зберігання.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому для більш повної оцінки якості сперми бугаїв молочних і м'ясних порід буде проведено дослідження запліднювальної здатності спермійів, за умов довготривалого зберігання.

### MORPHOMETRY OF BULL SPERM DAIRY AND BEEF BREEDS DEPENDING ON TERM STORAGE

*A. A. Lyashenko*

Tcherkasy Experimental Station of Bioresources of NAAS

### S U M M A R Y

The investigation of morphometric characteristics of bull sperm dairy and beef breeds depending on the duration of storage in liquid nitrogen. For periods 31–45 years were obtained significantly smaller sperm, which indicates damage to the head and tail of the sperm through a process of freezing and subsequent storage. It was established that under the conditions of long-term storage sperm of bulls dairy and beef breeds observed a significant difference in the size of the sperm. Determine the probability of a relationship between physiological, morphological parameters and the length of the different parts of the semen. For term of storage 10–20 years in bulls dairy breeds the length of sperm head is 8,4–8,8  $\mu\text{m}$ , and length of the tail is 44,1–46,7  $\mu\text{m}$ , and in bulls of beef breeds the length of head is 8,5–9,1  $\mu\text{m}$  and length of the tail is 45,5–50,0  $\mu\text{m}$ .

# МОРФОМЕТРИЯ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ МОЛОЧНЫХ И МЯСНЫХ ПОРОД В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ

*А. А. Ляшенко*

Черкасская опытная станция биоресурсов НААН

## А Н Н О Т А Ц И Я

Проведено исследование морфометрических характеристик сперматозоидов быков молочных и мясных пород в зависимости от продолжительности хранения в жидком азоте. 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. Установлено, что в условиях длительного хранения спермы у быков молочных и мясных пород наблюдается достоверная межпородная разница в размерах спермиев. Определено вероятную зависимость между физиологическими, морфологическими параметрами и длиной разных частей спермия. При сроке хранения 10–20 лет у быков молочных пород длина головки спермия 8,4–8,8 мкм, длина хвоста — 44,1–46,7 мкм, а у быков мясных пород длина головки 8,5–9,1 мкм, длина хвоста — 45,5–50,0 мкм.

## Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Буркат В. П.* Банк генетичних ресурсів – основа прискороного 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'єднання по плем. справі у тваринництві. — К., 1997. — С. 173–175.
2. Програма збереження локальних та зникаючих порід сільськогосподарських тварин в Україні (згідно вимогами ФАО). «Збереження генофонду». Інститут розведення і генетики тварин НААН — Чубинське, 2013. — 24 с.
3. *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.
4. *Осташко Ф. И.* Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей / Ф. И. Осташко. К.: Урожай, 1978. — 256 с.
5. *Clement F.* Sperm morphology and fertility / F. Clement, Y. Ladonnet, M. Magistrini // Anim. Reprod. Sci. — 2001. — № 68. — P. 362–363.
6. *Gravance C. G.* Effects of cryopreservation on bull sperm head morphometry / C. G. Gravance, R. Vishwanath, C. Pitt // J. Androl. — 1998. — № 19(6). — P. 704–709.
7. *Sundararaman M. N.* Analyses of morphological and morphometrical deviations of bull spermatozoa by computer assisted semen analysis technique / M. N. Sundararaman, J. Kalatharan, K. Thilak Pon Jawahar // Asian Journal of Animal and Veterinary Advances. — 2007. — № 2. — P. 196–204.
8. *Наук В. А.* Структура и функции спермиев сельскохозяйственных животных при криоконсервации. — К.: Штиинца, 1991. — 199 с.
9. *Ляшенко А. О.* Вплив тривалого зберігання кріоконсервованої сперми бугаїв у рідкому азоті на показники якості сперматозоїдів / А. О. Ляшенко // Вісник Полтавської державної аграрної академії. — 2013. — № 2. — С. 162–164.
10. *Ляшенко А. О.* Морфологічний аналіз сперми бугаїв довготривалого зберігання / А. О. Ляшенко // Вісник Полтавської державної аграрної академії, 2014. — № 1. — С. 130–133.