

preparations of neurotropic and metabolic action. It is established that one of these preparations, "Stymulin - Vet" stimulates follicle ovulating on the ovaries for 22,9 % greater number of cows. But after its injection a significant number of cows still remain with anovulatory cycles. It is apparently due to the fact that the preparation stimulates the insufficient number of lutropin, on the availability and size of which depends the follicle ovulation on the ovaries.

It is known that copper deficiency causes a decrease in basal secretion and pre-ovulatory peak of LH. This is causing a low survival rate of embryos for these animals during estrus synchronization. That's why copper salts reinforce signs of cow estruation; activate pituitary gonad-stimulating hormones. For doe rabbits, Cu gluconate and edetic acid copper salt at a dose of 1 mg of Cu per 1 kg of live weight stimulated ovarian follicle ovulation.

For studying they were selected cows with 470-560 kg of live weight and milk yield 4400-5600 kg while highest lactation, which were under the same conditions of feeding and keeping.

The research experiment was conducted on the basis of the analogue groups. The control and experimental groups were formed from cows which had the first estruation after calving (8 heads) and from repeated cows (6 heads). Pilot cows, that had estruation after the first insemination, were injected biologically active "Nanovulin" in a dose of 20 ml under the skin of the scapula in 12 and 24 hours. The control cows – 20 ml of normal saline

The aim of the study was to develop a biotechnological method of improving cow fertility by stimulating follicle ovulation on the ovaries with biologically active preparation "Nanovulin".

Two-time injection of the biologically active preparation of neurotropic and metabolic action "Nanovulin" in 12 and 24 hours after the first insemination increases the number of cows with follicle ovulation on the ovary by 35.7%.

**Keywords:** ovulation, follicle, stimulation, "Nanovulin", estruation.

Дата надходження в редакцію: 26.12.2013 р.

Рецензент: доктор с.-г. наук, професор А. М. Салогуб

УДК 636.082

## ОЦІНКА ЯКОСТІ СЕКСОВАНОЇ СПЕРМИ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ

**Ю.С. Пелих\***, Національний університет біоресурсів і природокористування України

\*Науковий керівник – д.с.-г.н, професор І. В. Гончаренко

В статті наведено результати біологічних та мікробіологічних досліджень сперми бугаїв-плідників розділеної за статтю з визначенням показників виживаності та рухливості спермій з прямолінійним-поступальним рухом відразу після розморожування та інкубації через 3 години після розморожування при температурі 37°C. Також визначено показники інтактності акросоми після розморожування та інкубації при тій же температурі; концентрації спермій у дозі та рівня мікробної контамінації. Дослідження проводились за допомогою комп'ютеризованої системи CASA – SpermVision.

В результаті досліджень встановлено, що сексована сперма, яка постачається в Україну відповідає встановленим вимогам до даного виду спермопродукції.

**Ключові слова:** сексована сперма, рухливість спермій, виживаність спермій, інтактність акросоми, мікробна контамінація.

**Постановка проблеми.** В останні роки в Україні спостерігається тенденція скорочення чисельності поголів'я великої рогатої худоби. Вирішення даної проблеми можливе лише за рахунок ефективного удосконалення існуючих та впровадження нових методів відтворення тварин.

Погіршення відтворної функції в стадах молочної худоби – одна з найважливіших проблем сьогодення, так як це призводить до відсутності власного ремонту стада за рахунок маточного поголів'я. Тому, для його забезпечення доцільно використовувати такий метод відтворення, як використання сперми розділеної за статтю (сексованої сперми). Даний метод забезпечує отримання теличок з ймовірністю 85 – 92 %.

Метод розділення сперми за статтю ґрунтується на різному вмісті ДНК в сперматозоїдах з X-

і Y-хромосомою. Під час цитометричного поділу клітин за статтю вони піддаються впливу різноманітних факторів: фарбування флуоресцентним вітальним барвником, інкубування при температурі 35°C протягом однієї години, впливу лазерного випромінювання, тиску, електромагнітного поля та центрифугування. Виходячи з цього постає питання про якість такого матеріалу, безпечність осіменіння ним тварин та гарантованість запліднення [2, 5].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.**

Як і будь-яка інша продукція тваринництва сперма має відповідати певним вимогам, які регламентуються і регулюються відповідними нормативними документами та стандартами. Це стосується і сперми розділеної за статтю.

Слід зазначити, що аналіз сперми має бути

точним, оскільки будь-яке відхилення від норми може значно вплинути на кінцевий результат [6].

Згідно з вимогами Євросоюзу, після криоконсервації сексована сперма проходить сувору оцінку відносно концентрації клітин в дозі, рухливості відразу після розморожування (не менше 40 %), рухливості через 3 години інкубації при температурі 30°C (не менше 30 %) і збереженні акросом (не менше 70 % сперматозоїдів з інтактною акросомою). Вибракування сексованої сперми за біологічними показниками, після проведення оцінки, складає близько 15 %.

Сексована сперма також піддається санітарній оцінці протягом 24 годин після розморожування. При цьому в одній дозі допускається вміст не більше 300 непатогенних мікробних тіл. Не допускається наявність в спермі грибків і дріжджів, а також кишкової палички [3].

Що стосується України, то на сьогоднішній день вимог щодо якості сексованої сперми, в

нашій державі, не існує. В Російській Федерації 1 січня 2013 року ввійшов в дію національний стандарт – ГОСТ Р 54633 – 2011 «Средства воспроизводства. Сперма быков криоконсервированная, разделенная по полу. ТУ», який встановлює вимоги до якості і безпеки криоконсервованої сперми бугаїв, що розділена за статтю: загальна кількість умовно патогенних мікроорганізмів в спермодозі сексованої сперми має бути не більше 25, кількість сперматозоїдів в пайеті – не менше 1,9 млн; сперматозоїдів з прямолінійним-поступальним рухом (ППР) – не менше 40 %; рухливість сперми після 3-х годин інкубації (при температурі 37°C) – не менше 20 %; цілісність акросоми після інкубації (3 години, при температурі 37°C) – не менше 50 %; кількість сперматозоїдів з аномальною морфологією – не більше 18 % та кількість сперматозоїдів, що містять Х-хромосому – не менше 85 % (табл. 1) [1, 4].

Таблиця 1.

Вимоги до якості криоконсервованої сперми після розморожування

Показник	Характеристика і норма
Зовнішній вид і консистенція	однорідна рідина без сторонніх домішок
Колір	жовтий чи світло-жовтий
Сперматозоїди з прямолінійним поступальним рухом (ППР), % не менше	40
Рухливість спермій після інкубації (3 год. при температурі 37°C), %	20
Кількість сперматозоїдів з аномальною морфологією, % не більше	18
Цілісність акросоми сперматозоїдів після інкубації (3 год. при температурі 37°C), %	50
Кількість сперматозоїдів з Х-хромосомою, % не менше	87
Число сперматозоїдів в соломинці млн, не менше	1,9

**Метою** наших досліджень було дослідити якість сексованої сперми бугаїв-плідників імпортованої в Україну за біологічними і мікробіологічними показниками.

**В завдання** наших досліджень входило вивчення наступних показників: рухливість сперматозоїдів відразу після розморожування і через три години інкубації при 37° С; число статевих клітин з інтактною акросомою відразу після розморожування і через три години інкубації при тій же тем-

пературі; концентрацію сперматозоїдів і мікробну контамінацію сперми.

**Матеріал і методика.** Для досліджень використано сексовану сперму бугаїв-плідників голштинської породи канадської селекції, отриману з фірми ТОВ «Сімекс Альянс Україна».

Нами було досліджено криоконсервовану сперму чотирьох бугаїв-плідників різних ліній в кількості 12 спермодоз, об'ємом 0,25 мл кожна (табл. 2).

Таблиця 2.

Схема дослідження сперми бугаїв-плідників

Кличка, ідент. № бугая-плідника, лінія	Кількість спермодоз
Benjamin CANM7866444, лінія Белла	3
Ardent HOUSAM137922325, лінія Чіфа	3
Mathys CANM103439288, лінія Чіфа	3
Vioris Sleeman HOCANM7817774, ЛініяВаліанта	3

У кожній спермо дозі визначали: рухливість спермій після розморожування; кількість спермій з прямолінійно-поступальним рухом (ППР), маневрним рухом та нерухомих після розморожування та після інкубації при температурі 37°C через 60 хв, 120 хв та 180 хв; інтактність акросоми; концентрацію спермій у дозі рівень мікробної забрудненості та динамічні характеристики руху спермій.

Рівень мікробної контамінації визначали одразу після розморожування за допомогою стандартних мікробіологічних методик.

Мікроскопічне дослідження клітин сперми

здійснено комп'ютеризованою системою CASA (Computer Assisted Semen Analysis)– Sperm Vision на технологічному обладнанні німецької фірми «Minitub» на базі лабораторії криоконсервації бугаїв-плідників ЛНВЦ ТзОВ «Західплемресурси» Львівської області.

Статистична обробка матеріалів проведена шляхом використання кореляційного аналізу за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel.

#### Результати дослідження.

Одним із найважливіших показників якості сперми є рухливість спермій. Тому даний показ-

ник враховано як відразу після розморожування, так і після інкубації. З метою одержання достовірних результатів від кожного бугая було досліджено по три проби.

Згідно отриманих даних (табл. 3), рухливість сексованих сперматозоїдів відразу після розморожування у всіх бугаїв значно коливалась. Найнижчі показники активності спостерігалися в буга-

гая-плідника BenjaminCANM7866444, в межах – 45 – 57%, найвищі – мав бугай-плідник ViorisSleemanHOCANM7817774, в межах 73 – 76%. Через три години після інкубації, найвищі показники активності спермійів залишилися у бугая ViorisSleeman – 39 – 46 %. Також, через три години після інкубації, показники активності спермійів не значно відрізнялися.

Таблиця 3.

Біологічні показники розмороженої сексованої сперми бугаїв-плідників

№ проби	Концентрація, млрд в 1 мл	Активність		Спермійів з інтактною акросомою, %		Мікробназобрудненість, мікр. тіл в дозі
		Після розморожування	Через 3 години після розморожування	Після розморожування	Через 3 години після розморожування	
Benjamin CANM7866444						
1	0,041	45	38	90	84	стерильно
2	0,044	46	41	85	80	стерильно
3	0,048	57	34	90	80	стерильно
Ardent HOUAM137922325						
1	0,033	64	37	90	85	стерильно
2	0,034	65	29	85	75	стерильно
3	0,037	51	36	80	70	стерильно
Mathys CANM103439288						
1	0,044	50	33	90	82	стерильно
2	0,045	46	21	90	80	стерильно
3	0,049	78	37	85	80	стерильно
Vioris Sleeman HOCANM7817774						
1	0,045	73	42	90	75	стерильно
2	0,046	76	39	90	80	стерильно
3	0,040	73	46	85	75	стерильно

Аналіз цілісності акросом у сексованих сперматозоїдів засвідчує, що процес розділення сперми не здійснив значного негативного впливу на цей показник. Інкубація сперми протягом трьох годин призвела до незначного зниження статевих клітин з непошкодженою акросомою.

Мікробіологічний аналіз розморожених зразків сексованої сперми підтвердив їх стерильність у всіх пробах.

Для вивчення і рухливості і живучості розморожених сперматозоїдів нами були проведені

спеціальні експерименти, в яких вивчено рухливість сексованих сперматозоїдів через кожну годину після їх відтавання і інкубації при 37°C.

Дані таблиці 4 свідчать, що відразу після розморожування у всіх бугаїв-плідників спостерігається достатня рухливість сперматозоїдів, при чому у бугая-плідника Vioris Sleeman HOCANM 7817774 вона дуже висока 73 – 78%, що рідко зустрічається навіть при звичайному заморожуванні несексованої сперми.

Таблиця 4.

Аналіз рухливості та виживаності розморожених сексованих сперматозоїдів за допомогою програми «SpermVision»

№ проби	Кількість спермійів з прямолінійним поступальним рухом (ППР) після розморожування, %	Кількість спермійів з прямолінійним поступальним рухом (ППР) після інкубації при 37°C, %		
		через 60 хв	через 120 хв	через 180 хв
Benjamin CANM7866444				
1	39	61	31	21
2	37	44	28	26
3	50	51	35	16
Ardent HOUAM137922325				
1	54	64	24	23
2	53	56	15	14
3	45	45	21	18
Mathys CANM103439288				
1	41	50	24	16
2	34	57	16	11
3	70	70	39	29
Vioris Sleeman HOCANM7817774				
1	73	63	33	29
2	78	67	26	20
3	73	61	39	27

По мірі збільшення терміну інкубації розмороженої сперми при температурі 37 ° C, відбува-

ється поступове зниження кількості сперматозоїдів з прямолінійним-поступальним рухом у всіх

зразках.

Найвища виживаність розморожених сперматозоїдів спостерігалася у двох бугаїв: ViorisSleemaHOCANM7817774 та BenjaminCANM7866444.

**Висновки.** Дослідження біологічних і мікробіологічних показників сексованої сперми бугаїв-плідників показали, що сперма, яка постачається в Україну і реалізується фірмою «Сімекс Альянс Україна» відповідає вимогам Євросоюзу та Державному стандарту РФ, що пред'являються до даного виду спермопродукції.

Надходження сексованої сперми має бути

контрольованим певним відомством Міністерства аграрної політики та продовольства, а визначення її якості потребує створення незалежної державної лабораторії та термінового розроблення стандарту, який би відповідав вимогам ISO.

**Перспективи подальших досліджень.** Використання комп'ютеризованої системи CASA дає можливість більш глибоко досліджувати якість даного виду спермопродукції та проводити його порівняльну оцінку з нерозділеною спермою, і виходячи з цього вести мову, як про якість, так і селекційне значення сексованої сперми.

#### **Список використаної літератури:**

1. ГОСТ Р 54633 – 2011 «Средства воспроизводства. Сперма быков криоконсервированная, разделенная по полу. ТУ»
2. Дунин И. Эффективность осеменения телок сексированным семенем / И. Дунин, А. Ерохин, М. Дунин, А. Кочетков // Молочное и мясное скотоводство. – 2011. - № 3.- С.9 – 11.
3. Фичак В. Сексована за статтю сперма бугаїв-плідників / В. Фичак // Agroexpert. – 2009. - № 11. – С.64 – 65.
4. Фомичев Ю. Сексированная сперма быков криоконсервированная. Оценка качества и безопасности / Ю. Фомичев, Н. Стрекозов, В. Маркелова, А. Ерохин, С. Советкин // Молочное и мясное скотоводство. – 2012. - № 5. – С. 2 – 4.
5. Яблонський В.А. Штучне регулювання статі приплоду, як новітнє досягнення біотехнології відтворення тварин / В.А. Яблонський. – 2010. – Київ, 2010. – 25 с.
6. Яремчук І.М. Сучасні можливості аналізу якості сперми і розрахунку спермодоз / І.М. Яремчук, М.М. Шаран // Біологія тварин. – 2012. – т. 14. – № 1-2. – С. 697 – 701.

#### **Пельх Ю.С. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СЕКСИРОВАННОЙ СПЕРМЫ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ**

*В статье приведены результаты биологических и микробиологических исследований спермы быков-производителей разделенной по полу с определением показателей выживаемости и подвижности спермиев с прямолинейным-поступательным движением сразу после размораживания и инкубации через 3 часа после размораживания при температуре 37 ° С. Также определены показатели интактности акросомы после размораживания и инкубации при той же температуре, концентрации спермиев в дозе и уровня микробной контаминации. Исследования проводились с помощью компьютеризированной системы CASA - Sperm Vision .*

*В результате исследований установлено, что сексированная сперма, которая поставляется в Украину отвечает установленным требованиям к данному виду спермопродукции .*

**Ключевые слова:** сексированная сперма, подвижность спермиев, выживаемость спермиев, интактность акросомы, микробная контаминация.

#### **Pelykh U.S. QUALITY CONTROL OF BULLS SEXED SEMEN**

*The article gives research results into bulls semen that was sex separated with the definition of indicators of survival spermium mobility with linear-forward movement after defreezing and after 3 hours of incubation at 37 °C. Also have been analysed acrosome integrity (intactness) after defreezing and after 3 hours of incubation; spermium concentration in a doze, and microbial contamination level. This research has been made with the help of the computerised system CASA - Sperm Vision.*

*As a result of this research found that sexed sperm that supplied to Ukraine meets the requirements for this type of semen.*

**Keywords:** sexed semen, spermium mobility, spermium survival, acrosome integrity (intactness), microbial contamination level.

Дата надходження в редакцію: 26.12.2013 р.

Рецензент: доктор с.-г. наук, професор А. М. Салогуб