



УКРАЇНА

UA,,, 13368

(13)

СІ

<5i>5 Л 61 D 19/02

ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДОМСТВО

## ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПОКАЗНИКІВ СПЕРМОПРОДУКТИВНОСТІ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ

1

(20)95320750, 17.09.93

(21)4858919/SU

(22)13.08.90

(24)28.02.97

(46)28.02.97. Бюл. №1

(56) Генетические основы селекции крупного рогатого скота Киев, Наукова думка, 1981, с. 183-186 (прототип).

(72) Кругляк Андрій Петрович, Лисовеико Ганна Степанівна, Шустовська Марія Дороф(7вна

(73) Інститут розведення 1 генетики тварин (UA)

(57) 1. Способ прогнозирования показателей спермопродуктивности быков-производителей, включающий оценку первых 5~10 эякулятов по объему, количеству и подвижности половых клеток, числу накопленных спермодоз, о т л и ч а ю щ и с я тем, что дополнительно определяют активность аспартат-аланин-аминотрансфераз и содержание глутаминовой кислоты в плазме нагивной спермы и после воздействия на

нее в течение 1-2 мин жидким азотом и бидистиллированной водой, после чего устанавливают коэффициент морозоустойчивости по соотношению активности трансфераз и уровня глутаминовой кислоты в замороженной к нативной сперме, а также определяют стабильность качества спермы по показателю нормированного отклонения каждого из определяемых показателей спермы за отдельный промежуток времени. 2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что к быкам производителям с высоким уровнем спермопродуктивности относят животных, продуцирующих в возрасте 9-10 мес не менее 5 мл спермы с концентрацией не ниже 1,0 млрд/мл, подвижностью половых клеток в нативной сперме не ниже 7 баллов, количеством живых клеток в эякуляте не менее 4,0 млрд., с уровнем активности аспартат-аланин-аминотрансфераз 6,5 мк/моль мл, содержанием глутаминовой кислоты не ниже 55 мг на 100 мл и коэффициентом морозоустойчивости не ниже 0,6.

C >

00 00  
0N 00

O

Изобретение относится к сельскому хозяйству и, в частности, к способам оценки и прогнозирования продуктивности самцов животных, преимущественно быков-производителей.

Известен способ оценки быков по спермопродукции, где установлена положительная корреляционная связь между количеством спермиев в первом 10 эякулятах и за 12 месяцев использования ( $r = +0,44-0,77$ ).

Недостаток известного способа - отсутствие сведений о качестве (морозоустойчи-

вости) данных клеток, что не позволяет судить о возможности замораживания клеток и количестве фактически накопленных спермодоз, а значит, не обеспечивает главного процесса - прогнозирования показателей спермопродуктивности. Кроме того, не учитываются другие основные показатели качества спермы, такие как объем эякулята, концентрация и подвижность клеток в них, что не позволяет сделать вывод, за счет каких показателей увеличивается или уменьшается количество накопленных спермодоз, а

энцит отсутствует возможность управления процессом

Близким по биологической сущности к изобретению является способ прогнозирования качества спермы самцов по уровню фрагментов (АСТ и АЛТ) в клетках, включающий определение подвижности спермиев (нативная сперма) по уровню фермента АСТ в них

Однако этот способ не предусматривает прогнозирования показателя морозостойчивости клеток, а значит, возможного количества накопленных спермодоз. Таким образом, данный способ может быть применим лишь на нативной (свежей) сперме производителей.

Также близким к изобретению является способ, использующий данные о взаимосвязи показателей оплодотворяющей способности спермиев быков и количества свободных аминокислот (например, глутаминовая) в плазме нативной спермы.

Недостатком этого способа является то, что он также не предусматривает оценку спермиев по их морозостойчивости, а значит, не пригоден для работы с замороженной спермой.

Наиболее близким к изобретению является способ прогнозирования спермопродукции быков, заключающийся в прогнозировании количества продуцируемой ими спермы по числу заготовленных спермодоз от быка за первые 5-10 эякулятов. Данный способ прогнозирования недостаточно объективен. Прежде всего, он не учитывает количество половых клеток в дозе, которое может варьировать от 10 до 25 млн. в дозе. Следовательно, сравнивать двух быков, принадлежащих разным племпредприятиям, между собой не представляется возможным. Кроме того, он не отражает потенциальную биологическую способность спермиев переносить технологическую обработку, вследствие чего хорошая сперма может быть выбракована из-за некачественно проведенных технологических операций (разбавление, замораживание, оттаивание и т.д.). С другой стороны, он не отражает качественных различий спермиев, подвижность которых после оттаивания может быть разной (от 0,5 до 5 и 6 баллов). Кроме того, на качество спермы и количество заготовленных спермодоз может существенно повлиять режим использования быков, который не учитывается.

Целью изобретения является прогнозирование уровня и качества спермопродукции молодых быков для повышения эффективности племенного отбора производителей.

Поставленная цель достигается тем, что молодых быков 9-10-месячного возраста начинают использовать на умеренном режиме дуплетной садкой через 9 дней. По данным оценки первых 5-10 эякулятов для дальнейшей оценки оставляют тек быков, количественные показатели спермы (объем, общее число спермиев в эякуляте) которых превышают среднее по группе \*и 40% и более.

Данный способ отличается тем, что кроме ранее предложенных показателей определения качества спермы (общее число доз пригодной спермы, объем эякулята, подвижность и концентрация клеток) включаются показатели активности аспартат- и алаанин-минотрансфераз, содержание глутаминовой кислоты в плазме спермы как индикаторы пригодности спермы к глубокому охлаждению и показатель нормированного отклонения количественных характеристик спермы, свидетельствующий о начале изменений ее качества.

При установлении фертильности быка учитывается общее количество прямолинейно-подвижных спермиев в среднем из 5 или 10 эякулятов. определяется количество живых клеток в одной спермодозе; производное частного от этих чисел на коэффициент потерь клеток при замораживании является потенциальным показателем репродуктивной функции быка (количество спермодоз со стандартным содержанием живых клеток за день использования быка, см. табл. 1). Установлена четкая корреляционная связь между показателями спермы, полученной в первых десяти и последующих эякулятах ( $r = +0,30-0,83$ ).

По показателю нормированного отклонения качественных характеристик (подвижность) половых клеток определяют изменение тенденции качества спермы (или сперматогенеза) в среднем по всему стаду при  $n = 100$  и более (табл. 2).

" Сохранение закономерностей увеличения показателей спермопродукции с возрастом быков дает возможность рекомендовать уровень спермопродукции первых 5-10 эякулятов в качестве наиболее раннего критерия отбора быков. Производители, которые характеризуются высшими показателями первых 5-10 эякулятов, способны продуцировать в течение всего периода использования значительно большее количество спермы.

Увеличение показателя нормированного отклонения подвижности клеток на 3-12% свидетельствует об изменении (как правило, ухудшении) качества продуцируемой спермы.

В плазме, полученной из первых 5-10 эякулятов молодых быков-производителей, центрифугированием (7-8 тыс. об/мин в течение 30 мин или 15 тыс. об/мин в течение 15 мин) определяют активность аспартат- и 5 аланинаминотрансфераз и количественное содержание глутаминовой кислоты.

Поставленная цель достигается тем, что нативная сперма делится на две равные части. Одну из них подвергают температурно-10 му шоку путем погружения в жидкий азот на 1-2 мин, после чего оттаивают. Затем обе части центрифугируют при 7-15 тыс. об./мин в течение 30-15 мин, отбирают плазму, разбавляют ее дистиллированной 15 водой в соотношении 1:2 и определяют уровень активности фермента аспартатаминотрансферазы (АСТ) в клетках и плазме. По уровню активности АСТ в сперме судят о морозоустойчивости последней. При актив-20 ности фермента 9,0 мкмоль/мл в час ПОГ-деижность нативной спермы составляет 7,5-7,8 баллов, а после оттаивания - 4-4,5 балла. При уровне активности 4-5 мкмоль/мл в час эти показатели равны соот-25 ветственно 5,6-6,2 балла и 2,5 балла после замораживания-оттаивания. Показателем морозоустойчивости клеток служит также количество вышедшего фермента после того, как их подвергли температурному шоку. 30 Чем больше фермента выходит из спермиев и, таким образом, выявляется в плазме, тем ниже их морозоустойчивость. Отношение активности АСТ после воздействия холодом в плазме к активности в клетках с хорошей 35 морозоустойчивостью быков 9-10-месячного возраста должно составлять 0,6:1.

Существенным признаком способа является определение глутаминовой кислоты в плазме спермы как показателя, характери-40

зующего способность спермиев к глубокому охлаждению. Ее определяют на автоматическом аминокислотном анализаторе с предварительным осаждением белков плазмы спермы 15% раствором сульфосалициловой кислоты, центрифугированием при 7-8 тыс. об/мин & течение 30 мин.

При уровне глутаминовой кислоты в плазме спермы молодых быков до 45 мг на 100 мл биологические показатели спермы низкие и не соответствуют ГОСТ 20909.1-75-ГОСТ 20909.6.75. С повышением уровня глутаминовой кислоты такие показатели качества спермы, как подвижность, морозоустойчивость и выживаемость клеток, повышаются и при уровне 55 мг и выше на 100 мл соответствуют ГОСТ.

Пример. При содержании глутаминовой кислоты в плазме спермы быков двух групп в среднем 40-43 мг/100 мл подвижность клеток составляла 4-6 баллов, замораживаемость 2 балла и выживаемость 2,6-2,8 ч. С повышением концентрации глутаминовой кислоты до 60-70 мг/100 мл подвижность нативных клеток составила 8 баллов, замороженно-оттаянных - 3,5-4,0 балла и выживаемость 4-5 ч, что соответствует принятым ГОСТ (табл. 3). Количественное содержание глутаминовой аминокислоты в плазме спермы положительно коррелирует с показателями морозоустойчивости спермиев. Коэффициент корреляции с подвижностью спермиев после размораживания +0,54 ( $p < 0,01$ ) и с абсолютным показателем выживаемости спермиев +0,56 ( $p < 0,001$ ). Достигнутый положительный эффект позволяет широко использовать предлагаемый способ прогнозирования спермопродуктивности молодых быков в условиях племенных предприятий.

Т а б л и ц а 1

Зависимость между показателями спермопродукции за первые 10 эякулятов и последующими периодами использования быков,  
п-31

| Группы быков  | Количество эякулятов |     |      |      |      |     |     |     |     |
|---|----------------------|-----|------|------|------|-----|-----|-----|-----|
|   | 5                    | 10  | 20   | 60   | 100  | 200 | 3QQ | 400 | 500 |
| Быки с низким объемом дуплетного эякулята, мл (I)   | 3,3                  | 3,5 | 3,7  | 3,7  | 3,8  | 4,3 | 4,6 | 6,4 | 6,1 |
| Быки с высоким объемом дуплетного эякулята, мл (II)   | 5,5                  | 5,7 | 5,8  | 5,8  | 6,3  | 6,8 | 7,8 | 8,5 | 9,5 |
| Среднее по группе   | 3,8                  | 4,0 | 4,2  | 4,2  | 5,0  | 5,1 | 5,4 | 7,3 | 8,1 |
| Коэффициент   | -                    | 1,0 | 1,05 | 1,05 | 1,25 | 1,3 | 1,4 | 1,8 | 2,0 |
| Общее число спермиев в эякуляте, млрд.  |                      |     |      |      |      |     |     |     |     |
| I   | 3,2                  | 3,4 | 3,6  | 3,8  | 3,6  | 5,6 | 5,4 | 5,8 | 5,1 |
| 11  | 6,3                  | 6,4 | 7,1  | 7,1  | 7,8  | 8,8 | 8,2 | 9,1 | 9,7 |
| Среднее   | 4,1                  | 4,2 | 4,7  | 4,9  | 5,0  | 6,9 | 6,6 | 7,4 | 7,5 |
| Коэффициент   | -                    | 1,0 | 1,1  | 1,15 | 1,2  | 1,6 | 1,5 | 1,7 | 1,8 |
| Количество спермодоз из одного дуплетного эякулята при содержании 15 млн. прямолинейно-подвижных клеток в дозе при умеренном режиме использования (1 дуплетная садка в 6-9 дней), шт. |                      |     |      |      |      | -   |     |     |     |
| I   | 85                   | 90  | 96   | 101  | 96   | 149 | 144 | 154 | 136 |
| II  | 168                  | 170 | 189  | 189  | 208  | 234 | 218 | 242 | 258 |
| Отношение показателей 2-й к 1-й группе  | 1,9                  | 1,9 | 2,0  | 1,9  | 2,1  | 1,6 | 1,5 | 1,6 | 1,9 |
| Коэффициент возрастной изменчивости   | 1,0                  | 1,0 | 1,1  | 1,1  | 1,2  | 1,4 | 1,3 | 1,4 | 1,5 |

от  
от

со

Т а б л и ц а 2

| Показатель                               | Показатель нормированного отклонения, % |   |
|--|---|---|
|  | в норме                                 | при предстоящем изменении качества спермы |
| Объем эякулята                           | 35-40                                   | 45 и более                                |
| Концентрация                             | 25-35                                   | 36 и более                                |
| Подвижность клеток в нативной сперме     | 10-17                                   | 20 и более                                |
| Подвижность клеток в замороженной сперме | 6-12                                    | 19 и более                                |

Т а б л и ц а 3

Зависимость морозоустойчивости спермиев от уровня глутаминовой кислоты в плазме Спермы

| Группы быков | Возраст, мес. | Количество глутаминовой кислоты, мг в 100 мл | Сперма                     |                                |                            |                 |      |
|--------------|---------------|--|----------------------------|--------------------------------|----------------------------|-----------------|------|
|              |               |  | Нативная                   |                                | Размороженная              |                 |      |
|              |               |  | Подвижность спермиев, балл | Концентрация спермиев, млрд/мл | Подвижность спермиев, балл | Выживаемость, ч |      |
| 1            | 11-15         | 42,92  | 4,8                        | 0,90                           | 2,27                       | 2,6             | 4,0  |
| (п-в)        | 18 и более    | 40,71  | 5,7                        | 0,81                           | 2,25                       | 2,8             | 3,7  |
| II           | 11-15         | 60,83  | 8,0                        | 1,24                           | 3,4                        | 3,6             | 7,4  |
| (п-4)        | 18 и более    | 68,98  | 8,0                        | 1,25                           | 3,7                        | 4,3             | 10,2 |
| III          | 36-96         | 73,04  | 8,0                        | 1,02                           | 4,5                        | 4,5             | 10,9 |
| (п=4)        |               |  |                            |                                |                            |                 |      |

Упорядник

Техред М.Моргентал

.Корректор Л. Лукач

Замовлення 4112

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, КиГа-53. Львівська пл.. 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101

