

УДК 639.31

ВЛИЯНИЕ БОРНОЙ КИСЛОТЫ НА КАЧЕСТВЕННЫЕ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМАТОЗОИДОВ СИБИРСКОГО ОСЕТРА В ТЕЧЕНИЕ КРАТКОСРОЧНОГО ХРАНЕНИЯ**К. Л. ШУМСКИЙ, Н. В. БАРУЛИН, М. М. УСОВ***УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Горки, Республика Беларусь, 213407**(Поступила в редакцию 12.12.2018)*

В технологии искусственного воспроизводства осетровых рыб важным моментом является период хранения спермы, поскольку этого требует различные технологические ситуации (задержка созревания самок, необходимость транспортировки и др.). Известным способом хранения спермы является ее криоконсервация. Однако криоконсервация может значительно снизить качество сперматозоидов. По этой причине перспективной является разработка методов увеличения периода краткосрочного хранения спермы осетровых рыб. Цель наших исследований заключалась в изучении влияния борной кислоты на качественные и количественные показатели сперматозоидов сибирского осетра ленской популяции в течение краткосрочного хранения. Проведенные исследования на примере сибирского осетра установили, что борная кислота способна влиять на качественные и количественные показатели спермы осетровых рыб, увеличивая общий срок краткосрочного хранения без использования криоконсервации (до 13 суток). При этом рекомендуемая дозировка борной кислоты при добавлении в сыворотку спермы составляет 500 мг/л.

Ключевые слова: *аквакультура, сибирский осетр, ленский осетр, сперма, сперматозоиды, краткосрочное хранение, подвижность, борная кислота.*

In the technology of artificial reproduction of sturgeon, an important point is the period of storage of sperm, since this requires different technological situations (delayed maturation of females, the need for transportation, etc.). A known method of storing sperm is its cryopreservation. However, cryopreservation can significantly reduce the quality of sperm. For this reason, it is promising to develop methods for increasing the period of short-term storage of sturgeon sperm. The goal of our research was to study the effect of boric acid on the qualitative and quantitative indicators of spermatozoa of the Siberian sturgeon of the Lena population during short-term storage. The studies performed on the example of the Siberian sturgeon found that boric acid can affect the qualitative and quantitative indicators of sturgeon sperm, increasing the total period of short-term storage without using cryopreservation (up to 13 days). In this case, the recommended dosage of boric acid when added to the sperm serum is 500 mg / l.

Key words: *aquaculture, Siberian sturgeon, Lena sturgeon, sperm, spermatozoa, short-term storage, mobility, boric acid.*

Введение

Критическое снижение численности осетровых рыб в естественных условиях приобрело общемировую проблему. Одним из способов решения этой проблемы является аквакультура – выращивание рыб и других гидробионтов, в контролируемых человеком условиях, в том числе в рыбоводных индустриальных комплексах [10]. Однако выращивание осетровых рыб в условиях аквакультуры сталкивается с трудностями искусственного воспроизводства практически на каждом этапе технологического процесса – от формирования маточного стада, до получения жизнестойкой молоди [1, 3]. В этой связи актуальной является разработка способов и методик, направленных на повышение эффективности технологии воспроизводства осетровых [2, 5, 6, 7, 12].

В технологии искусственного воспроизводства осетровых рыб важным моментом является период хранения спермы, поскольку этого требует различные технологические ситуации (задержка созревания самок, необходимость транспортировки и др.). Известным способом хранения спермы является ее криоконсервация [14]. Однако криоконсервация может значительно снизить качество сперматозоидов. По этой причине перспективной является разработка методов увеличения периода краткосрочного хранения спермы осетровых рыб [4].

Краткосрочное хранение спермы включает в себя разбавление собранной спермы, либо в соответствующей семенной жидкости, либо в специальных разбавителях (растворах, предназначенных для поддержания спермы в состоянии покоя) в сочетании с хранением спермы при пониженных температурах (2–4 °С) в течение дней и недель [8, 9, 11]. Этот метод представляет собой важный инструмент для рыбоводческих хозяйств, например, в тех случаях, когда самцы из маточного стада реагируют на гормональную стимуляцию быстрее, чем самки. Использование разбавителя обеспечивает концентрацию ионов и осмотическое давление на изоосмотическом уровне, близком к уровню семенной плазмы, что предотвращает активацию сперматозоидов [13], защищает сперму от осмотического повреждения и загрязнений, таких как

моча [8, 15] и поддерживает источник АТФ, необходимый для избиения жгутиков, а также оплодотворяющей способности спермы [8, 9, 11]. При низких температурах сперматозоиды имеют низкий метаболизм и могут сохраняться в течение нескольких дней в соответствующих разбавителях спермы [8, 9, 11]. Тем не менее длительные условия хранения в холодном месте могут значительно повлиять на качество спермы, поскольку анаэробные условия и связанные с ними мощные микробные загрязнения могут снизить подвижность и жизнеспособность сперматозоидов. Чтобы решить эту проблему, рекомендуется добавлять различные вещества, такие как антибиотики, консерванты, антиоксиданты в разбавитель.

Цель наших исследований заключалась в изучении влияния борной кислоты на качественные и количественные показатели сперматозоидов сибирского осетра ленской популяции в течение краткосрочного хранения.

Основная часть

В качестве объекта исследований была выбрана сперма самцов сибирского осетра ленской популяции, выращенных от стадии личинки до половозрелого состояния в условиях установки замкнутого водоснабжения (фермерское хозяйство «Василек», Дзержинский р-н, Минская обл.). Возраст самцов 7 лет, средняя масса 7,0 кг, средняя длина 99,5 см. После проведения сцеживания спермы производили манипуляции по ее разбавлению. Разбавление осуществляли в сыворотке спермы в соотношении 1:10, которую получали индивидуально для каждого самца. Получение сыворотки осуществляли методом центрифугирования при скорости вращения ротора 800 об/мин в течение 2 мин, а затем на оборотах 3500 об/мин в течение 10 минут. Для проведения исследований были сформированы следующие группы: контрольная группа, в которой сперма разбавлялась в сыворотке без добавления борной кислоты и опытные группы, в которых сперма разбавлялась в сыворотке с добавлением борной кислоты в концентрациях 125, 250, 500, 1000 мг/л. Исследуемая сперма помещалась в пробирки типа Eppendorf объемом 2 мл и хранилась в холодильнике при температуре 5 °С.

Более подробное описание методик содержания и подготовки самцов к получению спермы, анализа подвижности сперматозоидов и статистической обработки полученных результатов изложено в нашей предыдущей публикации [4].

В результате проведенных исследований нами было установлено, что борная кислота оказывает выраженное действие на качественные и количественные показатели сперматозоидов сибирского осетра ленской популяции в течение краткосрочного хранения.

Общая средняя криволинейная скорость сперматозоидов (VCL). Через сутки после сцеживания (на 2-й день хранения), в контрольной группе, в сыворотку которой не добавляли борную кислоту, общая средняя криволинейная скорость сперматозоидов (VCL) составила $59,90 \pm 0,52$ м/с. В опытных группах значения VCL составили: $61,76 \pm 0,78$ м/с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $58,39 \pm 0,67$ м/с при концентрации борной кислоты 250 мг/л, $57,11 \pm 0,62$ м/с ($p \leq 0,001$) при концентрации борной кислоты 500 мг/л, $50,12 \pm 0,90$ м/с ($p \leq 0,001$) при концентрации борной кислоты 1000 мг/л.

На 3-й день хранения в контрольной группе VCL составила $56,11 \pm 0,75$ м/с. В опытных группах значения VCL составили: $55,82 \pm 0,66$ м/с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $56,47 \pm 0,79$ м/с (250 мг/л борной кислоты), $48,61 \pm 0,96$ м/с ($p \leq 0,001$) (500 мг/л борной кислоты), $39,61 \pm 0,95$ м/с ($p \leq 0,001$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 4-й день хранения в контрольной группе VCL составила $54,50 \pm 1,22$ м/с. В опытных группах значения VCL составили: $53,11 \pm 0,94$ м/с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $53,93 \pm 1,26$ м/с (250 мг/л борной кислоты), $53,20 \pm 1,01$ м/с ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $47,41 \pm 1,48$ м/с ($p \leq 0,001$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 5-й день хранения в контрольной группе VCL составила $34,91 \pm 2,51$ м/с. В опытных группах значения VCL составили: $48,34 \pm 1,58$ м/с ($p \leq 0,001$) при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $53,61 \pm 1,52$ м/с ($p \leq 0,001$) (250 мг/л борной кислоты), $45,97 \pm 2,31$ м/с ($p \leq 0,001$) (500 мг/л борной кислоты), $47,65 \pm 1,86$ м/с ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 6-й день хранения в контрольной группе VCL составила $35,31 \pm 4,34$ м/с. В опытных группах значения VCL составили: $47,17 \pm 1,51$ м/с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $44,85 \pm 1,65$ м/с (250 мг/л борной кислоты), $49,08 \pm 1,81$ м/с ($p \leq 0,01$) (500 мг/л борной кислоты), $41,75 \pm 1,86$ м/с (1000 мг/л борной кислоты).

На 7-й день хранения в контрольной группе VCL составила $25,45 \pm 3,52$ м/с. В опытных группах значения VCL составили: $40,38 \pm 1,53$ м/с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,001$), $38,54 \pm 1,55$ м/с ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $40,64 \pm 2,20$ м/с ($p \leq 0,001$) (500 мг/л борной кислоты), $35,84 \pm 1,98$ м/с (1000 мг/л борной кислоты).

На 8-й день хранения в контрольной группе VCL составила $19,69 \pm 5,23$ μ/c . В опытных группах значения VCL составили: $37,23 \pm 2,85$ μ/c при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $49,17 \pm 4,63$ μ/c ($p \leq 0,01$) (250 мг/л борной кислоты), $39,43 \pm 2,62$ μ/c ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $33,45 \pm 2,53$ μ/c ($p \leq 0,001$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 9-й день хранения в контрольной группе подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В опытных группах значения VCL составили: $38,65 \pm 3,12$ μ/c при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $38,34 \pm 2,29$ μ/c ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $25,70 \pm 2,09$ μ/c ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $31,51 \pm 5,45$ μ/c ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 10-й день хранения в контрольной группе подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В опытных группах значения VCL составили: $14,96 \pm 2,63$ μ/c при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $35,53 \pm 4,39$ μ/c ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $31,14 \pm 2,38$ μ/c ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $17,92 \pm 2,42$ μ/c ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 11-й день хранения в контрольной и опытной группах с концентрацией борной кислоты 125 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах значения VCL составили: $32,80 \pm 3,32$ μ/c ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $35,00 \pm 3,00$ μ/c ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $27,02 \pm 2,42$ μ/c ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 12-й день хранения в контрольной и в опытной группах с концентрацией борной кислоты 125 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах значения VCL составили: $16,92 \pm 7,43$ μ/c ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $26,59 \pm 4,45$ μ/c ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $27,13 \pm 4,57$ μ/c ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 13-й день хранения в контрольной группе и в опытных группах с концентрацией борной кислоты 125 и 250 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах значения VCL составили: $27,29 \pm 3,59$ μ/c ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $23,69 \pm 4,35$ μ/c ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 14-й день хранения в контрольной и опытных группах группе подвижных сперматозоидов обнаружено не было. Визуализация полученных результатов представлена на рис. 1.

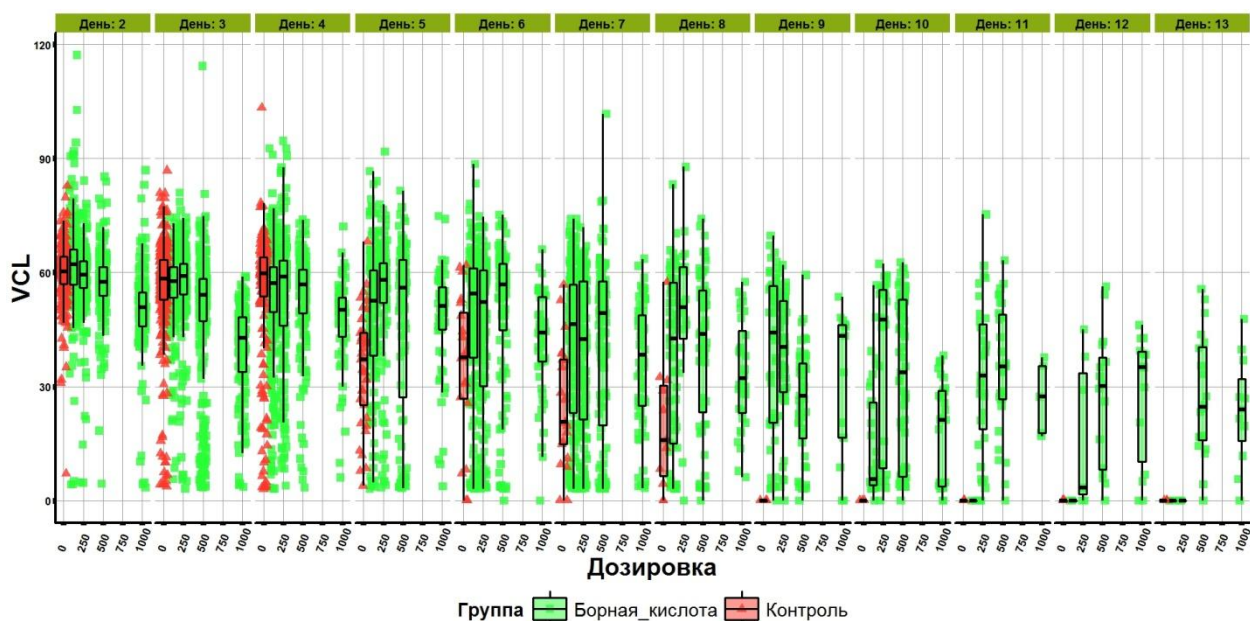


Рис. 1. Совмещенная диаграмма одномерного рассеяния и размахов изменения общей средней криволинейной скорости сперматозоидов сибирского осетра (VCL, μ/c) под влиянием борной кислоты в период краткосрочного хранения. Прямоугольник диаграммы размахов обозначает медиану, а также 0,25 и 0,75 квантили

Средняя криволинейная скорость сперматозоидов категории А (VCL (A)). Выше рассматривался показатель, который фиксируется у сперматозоидов всех категорий,двигающихся поступательно, зигзагообразно и колебательно. Однако непосредственно в оплодотворении принимают участие сперматозоиды, относящиеся к категории А, имеющие высокую скорость поступательных движений,двигающихся стремительно, преимущественно по линейной траектории. По этой причине высокий интерес имеет оценка спермы по средней криволинейной скорости сперматозоидов категории А [4].

Через сутки после сцеживания (на 2-й день хранения) в контрольной группе, в сыворотку которой не добавляли борную кислоту, средняя криволинейной скорость сперматозоидов категории А (VCL (A)) составила $60,13 \pm 0,47$ μ /с. В опытных группах значения VCL (A) составили: $62,63 \pm 0,65$ μ /с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $59,42 \pm 0,49$ μ /с при концентрации борной кислоты 250 мг/л, $57,55 \pm 0,54$ μ /с ($p \leq 0,001$) при концентрации борной кислоты 500 мг/л, $51,81 \pm 0,65$ μ /с ($p \leq 0,001$) при концентрации борной кислоты 1000 мг/л.

На 3-й день хранения в контрольной группе VCL (A) составила $58,86 \pm 0,45$ μ /с. В опытных группах значения VCL (A) составили: $57,30 \pm 0,46$ μ /с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $58,78 \pm 0,49$ μ /с (250 мг/л борной кислоты), $55,68 \pm 0,47$ μ /с ($p \leq 0,001$) (500 мг/л борной кислоты), $44,31 \pm 0,58$ μ /с ($p \leq 0,001$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 4-й день хранения в контрольной группе VCL (A) составила $59,83 \pm 0,68$ μ /с. В опытных группах значения VCL (A) составили: $57,17 \pm 0,65$ μ /с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $59,38 \pm 0,87$ μ /с (250 мг/л борной кислоты), $55,82 \pm 0,69$ μ /с ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $50,65 \pm 0,96$ μ /с ($p \leq 0,001$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 5-й день хранения в контрольной группе VCL (A) составила $44,06 \pm 1,83$ μ /с. В опытных группах значения VCL (A) составили: $55,10 \pm 1,10$ μ /с ($p \leq 0,001$) при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $58,51 \pm 0,88$ μ /с ($p \leq 0,001$) (250 мг/л борной кислоты), $58,18 \pm 1,24$ μ /с ($p \leq 0,001$) (500 мг/л борной кислоты), $51,01 \pm 1,42$ μ /с ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 6-й день хранения в контрольной группе VCL (A) составила $39,89 \pm 4,63$ μ /с. В опытных группах значения VCL (A) составили: $54,99 \pm 0,95$ μ /с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $55,71 \pm 0,88$ μ /с ($p \leq 0,01$) (250 мг/л борной кислоты), $57,17 \pm 1,02$ μ /с ($p \leq 0,01$) (500 мг/л борной кислоты), $45,89 \pm 1,61$ μ /с (1000 мг/л борной кислоты).

На 7-й день хранения в контрольной группе VCL (A) составила $34,15 \pm 6,13$ μ /с. В опытных группах значения VCL (A) составили: $52,81 \pm 0,88$ μ /с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,01$), $51,13 \pm 1,00$ μ /с ($p \leq 0,01$) (250 мг/л борной кислоты), $54,74 \pm 1,26$ μ /с ($p \leq 0,01$) (500 мг/л борной кислоты), $46,85 \pm 1,25$ μ /с (1000 мг/л борной кислоты).

На 8-й день хранения в контрольной группе VCL (A) составила $24,30 \pm 10,95$ μ /с. В опытных группах значения VCL (A) составили: $53,56 \pm 1,70$ μ /с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $51,35 \pm 4,33$ μ /с ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $50,63 \pm 1,91$ μ /с ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $43,73 \pm 2,06$ μ /с ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 9-й день хранения в контрольной группе подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В опытных группах значения VCL (A) составили: $50,63 \pm 2,37$ μ /с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $45,97 \pm 1,95$ μ /с ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $37,33 \pm 2,43$ μ /с ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $36,42 \pm 6,26$ μ /с ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 10-й день хранения в контрольной группе подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В опытных группах значения VCL (A) составили: $35,19 \pm 5,84$ μ /с при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $50,37 \pm 3,15$ μ /с ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $49,06 \pm 1,62$ μ /с ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $26,45 \pm 5,81$ μ /с ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 11-й день хранения в контрольной и опытной группах с концентрацией борной кислоты 125 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах значения VCL (A) составили: $42,37 \pm 3,74$ μ /с ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $44,12 \pm 3,18$ μ /с ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $36,52 \pm 1,11$ μ /с ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 12-й день хранения в контрольной и опытной группах с концентрацией борной кислоты 125 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах значения VCL (A) составили: $20,71 \pm 12,05$ μ /с ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $36,45 \pm 5,45$ μ /с ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $31,78 \pm 5,41$ μ /с ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 13-й день хранения в контрольной и опытных группах с концентрацией борной кислоты 125 и 250 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах значения VCL (A) составили: $39,08 \pm 5,49$ μ /с ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $30,88 \pm 10,58$ μ /с ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 14-й день хранения в контрольной и опытных группах группе подвижных сперматозоидов обнаружено не было. Визуализация полученных результатов представлена на рис. 2.

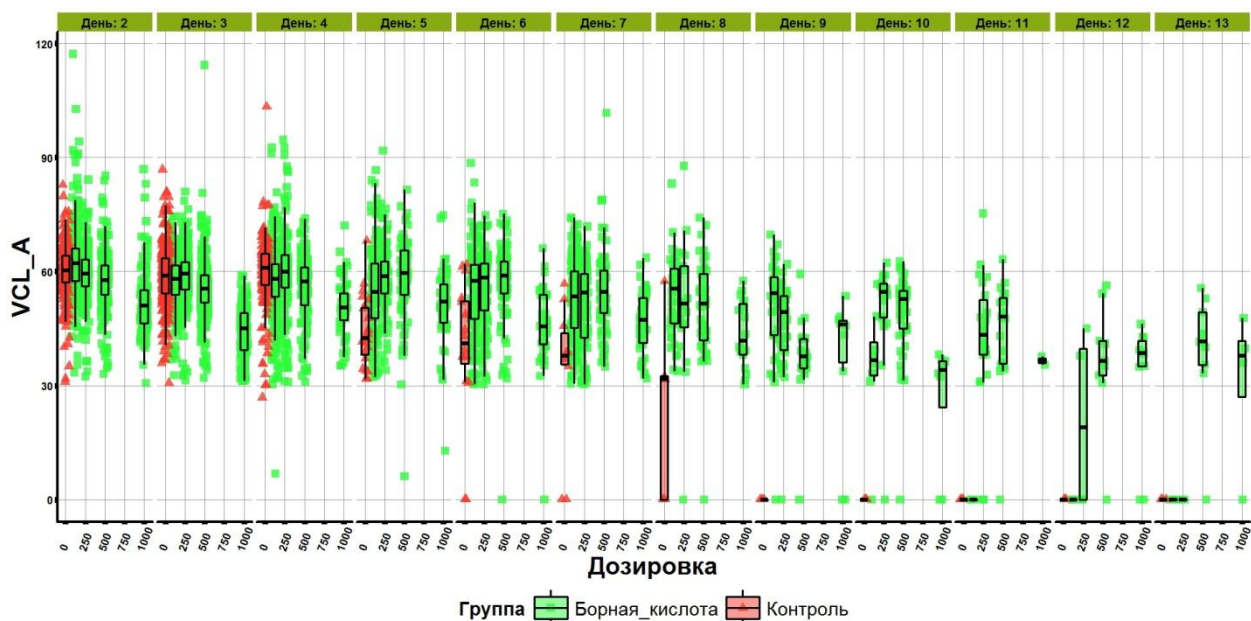


Рис. 2. Совмещенная диаграмма одномерного рассеяния и размахов изменения средней криволинейной скорости сперматозоидов категории А сибирского осетра (VCL, μ/s) под влиянием борной кислоты в период краткосрочного хранения. Прямоугольник диаграммы размахов обозначает медиану, а также 0,25 и 0,75 квантиль

Процент общей подвижности сперматозоидов. Наряду со скоростью подвижности сперматозоидов, особенно в условиях высокой продуктивности самок и разбавления водой, процент подвижности (количество подвижных) сперматозоидов является важным показателем [4].

Через сутки после сцеживания спермы (на 2-й день хранения) в контрольной группе, в сыворотку которой не добавляли борную кислоту, процент общей подвижности сперматозоидов составил $98,44 \pm 1,15$ %. В опытных группах значения процента общей подвижности сперматозоидов составили: $97,52 \pm 1,05$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $97,37 \pm 0,11$ % при концентрации борной кислоты 250 мг/л, $96,65 \pm 1,11$ % при концентрации борной кислоты 500 мг/л, $90,77 \pm 3,50$ % при концентрации борной кислоты 1000 мг/л.

На 3-й день хранения в контрольной группе процент общей подвижности составил $99,15 \pm 0,85$ %. В опытных группах значения процентов общей подвижности составили: $98,63 \pm 0,85$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $97,68 \pm 0,55$ % (250 мг/л борной кислоты), $97,94 \pm 0,58$ % (500 мг/л борной кислоты), $91,28 \pm 1,35$ % (1000 мг/л борной кислоты).

На 4-й день хранения в контрольной группе процент общей подвижности составил $85,06 \pm 9,97$ %. В опытных группах значения процентов общей подвижности составили: $95,89 \pm 1,20$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $97,23 \pm 1,70$ % (250 мг/л борной кислоты), $92,27 \pm 4,09$ % (500 мг/л борной кислоты), $81,49 \pm 1,00$ % (1000 мг/л борной кислоты).

На 5-й день хранения в контрольной группе процент общей подвижности составил $23,27 \pm 23,27$ %. В опытных группах значения процентов общей подвижности составили: $66,93 \pm 13,44$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $79,65 \pm 9,10$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $62,00 \pm 21,75$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $53,37 \pm 25,44$ % (1000 мг/л борной кислоты).

На 6-й день хранения в контрольной группе процент общей подвижности составил $33,33 \pm 3,33$ %. В опытных группах значения процентов общей подвижности составили: $67,37 \pm 4,73$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $87,57 \pm 3,73$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $57,27 \pm 29,77$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $48,91 \pm 24,46$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 7-й день хранения в контрольной группе процент общей подвижности составил $24,36 \pm 4,36$ %. В опытных группах значения процентов общей подвижности составили: $76,54 \pm 11,94$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $63,88 \pm 8,71$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $78,71 \pm 8,50$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $48,35 \pm 15,55$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 8-й день хранения в контрольной группе процент общей подвижности составил $3,75 \pm 3,75$ %. В опытных группах значения процентов общей подвижности составили: $60,72 \pm 8,72$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $50,00 \pm 28,87$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $42,13 \pm 21,44$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $38,53 \pm 1,95$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 9-й день хранения в контрольной группе подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В опытных группах значения процентов общей подвижности составили: $31,37 \pm 18,42$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $53,27 \pm 26,70$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $31,54 \pm 16,10$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $28,21 \pm 28,20$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 10-й день хранения в контрольной группе подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В опытных группах значения процентов общей подвижности составили: $28,99 \pm 16,30$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $47,22 \pm 23,73$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $56,16 \pm 28,09$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $25,44 \pm 25,44$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 11-й день хранения в контрольной группе и в опытной группе с концентрацией борной кислоты 125 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах значения процентов общей подвижности составили: $14,47 \pm 14,47$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $35,29 \pm 17,73$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $40,00 \pm 19,53$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 12-й день хранения в контрольной группе и в опытной группе с концентрацией борной кислоты 125 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах значения процентов общей подвижности составили: $6,94 \pm 6,94$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $30,43 \pm 15,22$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $5,97 \pm 5,97$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 13-й день хранения в контрольной группе и в опытных группах с концентрацией борной кислоты 125 и 250 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах значения процентов общей подвижности составили: $15,10 \pm 7,59$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $11,04 \pm 5,73$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 14-й день хранения в контрольной и опытных группах подвижных сперматозоидов обнаружено не было. Визуализация полученных результатов представлена на рис. 3.

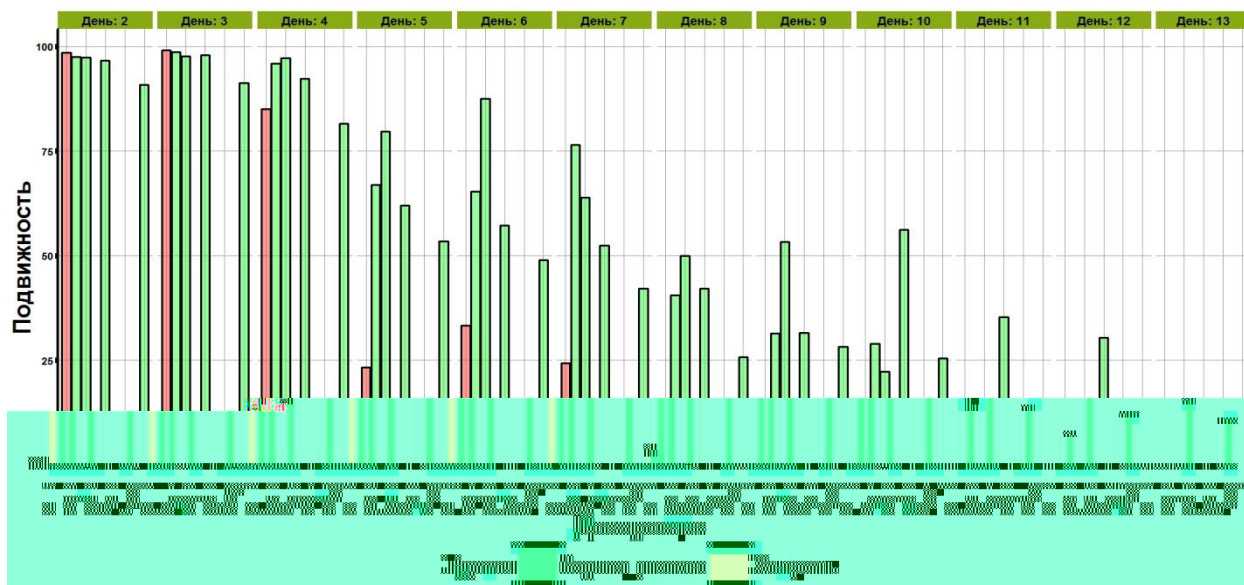


Рис. 3. Диаграмма изменения средней общей подвижности сперматозоидов сибирского осетра (%) под влиянием борной кислоты в период краткосрочного хранения

Процент сперматозоидов категории А. Как и в случае со скоростью подвижности, выше рассматривался показатель, который фиксируется у сперматозоидов всех категорий,двигающихся поступательно, зигзагообразно и колебательно. Однако непосредственный интерес для изучения сперматозоидов, участвующих в оплодотворении, является изучения процента подвижных сперматозоидов, относящихся к категории А [4].

Через сутки после сцеживания (на 2-й день хранения), в контрольной группе, в сыворотку которой не добавляли борную кислоту, процент сперматозоидов категории А составил $99,71 \pm 0,29$ %. В опытных группах процент сперматозоидов категории А составил: $98,14 \pm 1,41$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $97,80 \pm 1,52$ % при концентрации борной кислоты 250 мг/л, $99,14 \pm 0,44$ % при концентрации борной кислоты 500 мг/л, $96,70 \pm 1,66$ % при концентрации борной кислоты 1000 мг/л.

На 3-й день хранения в контрольной группе процент сперматозоидов категории А составил $95,00 \pm 1,82$ %. В опытных группах значения процента сперматозоидов категории А составили: $95,87 \pm 1,49$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $94,87 \pm 1,93$ % (250 мг/л борной кислоты), $83,28 \pm 6,49$ % (500 мг/л борной кислоты), $82,20 \pm 6,02$ % (1000 мг/л борной кислоты).

На 4-й день хранения в контрольной группе процент сперматозоидов категории А составил $88,64 \pm 1,45$ %. В опытных группах процент сперматозоидов категории А составил: $88,87 \pm 2,62$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $81,68 \pm 8,31$ % (250 мг/л борной кислоты), $92,74 \pm 1,74$ % (500 мг/л борной кислоты), $89,39 \pm 1,51$ % (1000 мг/л борной кислоты).

На 5-й день хранения в контрольной группе процент сперматозоидов категории А составил $21,62 \pm 21,62$ %. В опытных группах процент сперматозоидов категории А составил: $86,85 \pm 4,23$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л, $89,37 \pm 0,51$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $71,04 \pm 5,54$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $83,16 \pm 8,69$ % (1000 мг/л борной кислоты).

На 6-й день хранения в контрольной группе процент сперматозоидов категории А составил $25,93 \pm 25,93$ %. В опытных группах процент сперматозоидов категории А составил: $82,35 \pm 3,86$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $77,92 \pm 9,67$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $55,37 \pm 27,71$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $52,02 \pm 26,50$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 7-й день хранения в контрольной группе процент сперматозоидов категории А составил $14,04 \pm 14,04$ %. В опытных группах процент сперматозоидов категории А составил: $70,16 \pm 0,39$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $68,40 \pm 5,84$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $66,97 \pm 6,36$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $39,44 \pm 21,35$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 8-й день хранения в контрольной группе процент сперматозоидов категории А составил $11,11 \pm 11,11$ %. В опытных группах процент сперматозоидов категории А составил: $64,36 \pm 15,64$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $62,50 \pm 31,45$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $42,59 \pm 21,83$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $54,51 \pm 27,84$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 9-й день хранения в контрольной группе подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В опытных группах процент сперматозоидов категории А составил: $48,29 \pm 24,53$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $36,50 \pm 23,17$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $32,04 \pm 17,43$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $24,24 \pm 24,24$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 10-й день хранения в контрольной группе подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В опытных группах процент сперматозоидов категории А составил: $18,18 \pm 13,89$ % при концентрации борной кислоты в сыворотке спермы 125 мг/л ($p \leq 0,05$), $45,83 \pm 23,20$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $31,94 \pm 17,07$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $6,90 \pm 6,90$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 11-й день хранения в контрольной группе и в опытной группе с концентрацией борной кислоты 125 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах процент сперматозоидов категории А составил: $20,20 \pm 20,20$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $37,96 \pm 20,10$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $40,00 \pm 19,53$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 12-й день хранения в контрольной группе и в опытной группе с концентрацией борной кислоты 125 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах процент сперматозоидов категории А составил: $13,33 \pm 13,33$ % ($p \leq 0,05$) (250 мг/л борной кислоты), $34,85 \pm 17,47$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $22,22 \pm 22,22$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 13-й день хранения в контрольной группе и в опытных группах с концентрацией борной кислоты 125 и 250 мг/л подвижных сперматозоидов обнаружено не было. В остальных опытных группах процент сперматозоидов категории А составил: $29,49 \pm 15,12$ % ($p \leq 0,05$) (500 мг/л борной кислоты), $20,00 \pm 11,55$ % ($p \leq 0,05$) (1000 мг/л борной кислоты).

На 14-й день хранения в контрольной и опытных группах подвижных сперматозоидов обнаружено не было.

Как показали приведенные выше результаты, борная кислота оказывает влияние качественные и количественные показатели сперматозоидов в течение краткосрочного хранения. При оценке спермы под микроскопом такое влияние визуально проявлялось в изменении скорости подвижности, траектории движения, процента подвижных сперматозоидов. Так если на 2-й день хранения сперматозоидов траектории их движения значительно не отличались между исследуемыми группами, то на 8-й день в контрольной группе визуально увеличивалось количество сперматозоидов совершавших зигзагообразные и колебательные движения, при этом количество и скорость сперматозоидов, двигающихся по линейной траектории было значительно ниже, чем в опытной группе с концентрацией борной кислоты в сыворотке спермы 500 мг/л (рис. 5, в – г). На 13-й день хранения в опытной группе сохранялись подвижные сперматозоиды, двигающиеся по линейной траектории и способные к оплодотворению, тогда как в контрольной группе сперматозоиды полностью потеряли подвижность на 9-й день хранения.

Следует обратить внимание на тот факт, что в первые дни хранения спермы под влиянием борной кислоты в концентрациях 500 и 1000 мг/л происходило достоверное снижение средней криволинейной скорости сперматозоидов (общей и сперматозоидов категории А) относительно контрольной группы вплоть до 4 дня хранения. Этот эффект можно объяснить тем, что под влиянием борной кислоты в концентрациях 500 и 1000 мг/л происходило замедление метаболизма относительно контрольной группы, что позволило сохранить на более длительный период необходимый уровень АТФ, требуемый для биения жгутиков. Кроме данного эффекта, увеличение периода краткосрочного хранения спермы под влиянием борной кислоты можно объяснить ее антимикробным действием, поскольку длительные условия хранения спермы значительно затрагивают качество спермы, т. к. мощные микробные загрязнения уменьшают подвижность спермы и ее жизнеспособность [4].

Заключение

Таким образом, проведенные исследования на примере сибирского осетра установили, что борная кислота способна влиять на качественные и количественные показатели спермы осетровых рыб, увеличивая общий срок краткосрочного хранения без использования криоконсервации (до 13 суток). При этом рекомендуемая дозировка борной кислоты при добавлении в сыворотку спермы составляет 500 мг/л.

Полученные результаты представляют практический интерес для практики искусственного воспроизводства осетровых рыб и рекомендуются к использованию в инкубационных цехах в условиях неравномерного созревания производителей, а также при транспортировке спермы.

Авторы выражают благодарность сотрудникам фермерского хозяйства «Василек» В. Ф. Вергейчику, Ал. И. Лашкевичу, Ан. И. Лашкевичу за помощь в организации проведения исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барулин, Н. В. Системный подход к технологии регулирования воспроизводства объектов аквакультуры в рыбоводных промышленных комплексах / Н. В. Барулин // *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. (Серыя аграрных навук)*. – 2015. – № 3. – С. 107–111.
2. Барулин, Н. В. Лазерное излучение как важный элемент технологии аквакультуры / Н. В. Барулин, М. В. Шалак, В. Ю. Плавский // *Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии*. – 2008. – № 3. – С. 82 – 85.
3. Рекомендации по выращиванию рыболовского материала радужной форели в рыбоводных промышленных комплексах (с временными нормативами) / Н. В. Барулин [и др.]. – Горки: БГСХА, 2016. – 179 с.
4. Барулин, Н. В. Влияние различной концентрации разбавления спермы сибирского осетра на качественные и количественные показатели сперматозоидов в течение краткосрочного хранения / Н. В. Барулин, К. Л. Шумский // *Животноводство и ветеринарная медицина*. – 2018. – № 1. – С. 39 – 45.
5. Плавский, В. Ю. Влияние лазерного излучения инфракрасной области спектра на устойчивость молоди осетровых рыб к дефициту кислорода / В. Ю. Плавский, Н. В. Барулин // *Биомедицинская радиоэлектроника*. – 2008. – № 8–9. – С. 65–74.
6. Плавский, В. Ю. Влияние модуляции низкоинтенсивного лазерного излучения на его биологическую активность / В. Ю. Плавский, Н. В. Барулин // *Лазерная медицина*. – 2009. – Т. 13. – № 1. – С. 4–10.
7. Плавский, В. Ю. Фотофизические процессы, определяющие биологическую активность оптического излучения низкой интенсивности / В. Ю. Плавский, Н. В. Барулин // *Биомедицинская радиоэлектроника*. – 2009. – № 6. – С. 23–40.
8. Billard, R. Changes in structure and fertilising ability of marine and freshwater fish spermatozoa diluted in media of various salinities / R. Billard // *Aquaculture*. – 1978. – Vol. 14. – P. 187–198.
9. *In vitro* maturation of the potential for movement of carp spermatozoa / C. Redondo [et al.] // *Mol Reprod Dev*. – 1991. – Vol. 29. – P. 259–270.
10. Kostousov, V. G. Development of industrial fish culture in Belarus // V. G. Kostousov, N. V. Barulin. – p. 44 – 48 // *Handbook: Recirculation technologies in indoor and outdoor systems*; Edited by: Peter Lengyel [et al.]. – Szarvas, Hungary: Research Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation, 2013. – 92 p.
11. Kurokura solution as immobilizing medium for spermatozoa of tench (*Tinca tinca* L.) / M. Rodina [et al.] // *Aqua Int*. – 2004. – Vol. 12. – P. 119–131.

12. Plavskii, V. Y. Fish Embryos as Model for Research of Biological Activity Mechanisms of Low Intensity Laser Radiation / V. Y. Plavskii, N.V. Barulin. – P. 1 – 47 // *Advances in Laser and Optics Research*. – Vol. 4; Editors: William T. Arkin – New York, USA: Nova Science Publishers, Inc., 2010. – Vol. 4. – 264 p.
13. Short term preservation of carp (*Cyprinus carpio*) semen / A. Saad [et al.] // *Aquaculture*. – 1988. – Vol. 71. – P. 133–150.
14. Sperm biology and control of reproduction in sturgeon: (I) testicular development, sperm maturation and seminal plasma characteristics / S.M.H Alavi [et al.] // *Rev Fish Biol Fish*. – 2012. doi:10.1007/s11160-012-9268-4.
15. Urinary bladder, ionic composition of seminal fluid and urine with characterization of sperm motility in tench (*Tinca tinca L.*) / O. Linhart [et al.] // *J Appl Ichthyol*. – 2003. – Vol. 19. – P. 177–181.