

(надзору) (принят Коллегией ЕЭК) // КонсультантПлюс. Версия Проф [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. 16. Приказ Минсельхоза России от 21 февраля 2022 № 89 О Регламенте предоставления информации в систему государственного информационного обеспечения в сфере сельского хозяйства (принят Минсельхоз России) // КонсультантПлюс. Версия Проф [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. 17. Кодификатор для составления отчетов по форме 4-вет / Департамент ветеринарии МСХ России, Россельхознадзор.– М, 2012. – 141 с.

УДК 636.39.082.31: [577.19+636.082.453.52/.53]

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И ОЗОНИРОВАНИЯ НА КАЧЕСТВО СПЕРМЫ КОЗЛОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ПРИ ЕЕ КРАТКОВРЕМЕННОМ И ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ

**Богданович Д.М., Будевич А.И., Пайтеров С.Н.,
Кирикович Ю.К., Пайтерова О.В.**

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь

*Озонирование высокоочищенной воды для растворения AndroMed среды в течение 10 минут с последующим внесением в ее состав 1,5 мг лактоферрина позволит получить более высокие результаты спустя 24 часа хранения разбавленных эякулятов по показателю подвижности половых гамет козлов-производителей, значение которого составило 0,8-1,0 балл, в контроле – 2,4-2,5 балла. Установлено, что двигательная активность заморожено-оттаянных сперматозоидов при использовании озонированной среды с добавлением 1,5 мг лактоферрина сохранилась 4 часа. Это на 1 и 2 часа больше, по сравнению с применением крезацина и с контролем, соответственно. **Ключевые слова:** биологически-активные вещества, озонирование, козлы-производители, сперма, эякулят, лактоферрин, крезацин, криоконсервирование.*

THE EFFECT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES AND OZONATION ON THE QUALITY OF SPERM OF PRODUCING GOATS DURING ITS SHORT-TERM AND LONG-TERM STORAGE

Bogdanovich D.M., Budevich A.I., Paitserau S.N., Kirikovich Y.K., Paitserava O.V.
RUE «Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus
on Animal Breeding», Zhodino, Republic of Belarus

Ozonation of highly purified water to dissolve the AndroMed medium for 10 minutes, followed by the addition of 1.5 mg of lactoferrin to its composition, will allow to obtain higher results after 24 hours of storage of dilute ejaculates in terms of the mobility of sexual gametes of goat producers, the value of which was 0.8-1.0 points, in the control - 2.4–2.5 points. It was found that the motor activity of frozen-thawed spermatozoa when using an ozonated medium with the addition of 1.5 mg of lactoferrin was preserved for 4 hours. This is 1 and 2 hours more, compared with the use of cresacin and

with control, respectively. **Keywords:** biologically active substances, ozonation, producing goats, biomaterial, sperm, ejaculate, lactoferrin, crezacin, cryopreservation.

Введение. Повышение эффективности показателей искусственного осеменения животных является важной технологической задачей для дальнейшего прогресса в области селекции разводимых пород коз. Одним из путей увеличения продуктивности животных является улучшение репродуктивных показателей козлов-производителей, повышение качества свежеполученной и заморожено-оттаянной спермы, способствующие повышению оплодотворяемости маточного поголовья, увеличению выхода приплода от высокоценных животных. В последние годы среди средств улучшения воспроизводительной способности широко используют различные биологически активные вещества (БАВ), гормональные препараты, сыворотку жеребых кобыл, витамины А, Е, 1,4-бис бутан и др. [1, 2]. Широкому применению данных БАВ препятствуют сложность их производства и высокая стоимость. Положительное воздействие на репродуктивную способность животных оказывают фитогормоны, их синтетические аналоги. Большинство таких соединений токсичны для млекопитающих и оказывают нежелательные побочные эффекты. Альтернативой их применения могут служить немедикаментозные, прежде всего, биофизические методы воздействия, которые способствуют не только лучшей оплодотворяемости, рождаемости, выживаемости приплода, но и считаются более естественными и безопасными [3]. Детоксицирующим действием, бактерицидной и фунгицидной активностью, стимулирующей иммунные механизмы защиты, обладает белок женского молока лактоферрин (ЛФ). Активизации процессов кроветворения и иммуногенеза у животных, повышающих устойчивость организма к болезням, что проявляется в увеличении естественной продуктивности, способствует крезацин – иммуностимулятор, адаптоген нового поколения широкого спектра действия.

В связи с использованием учеными и практиками различных приемов и средств, как по отдельности, так и комплексно для повышения половой активности самцов и стимулирования деятельности половых желез актуальной задачей сегодня является разработка более совершенных биотехнологических приемов и методов, позволяющих повысить биологическую полноценность свежеполученных и деконсервированных половых клеток козлов-производителей.

Материалы и методы исследований. Исследования по влиянию комплексного применения биологически активных веществ и озонирования при приготовлении экстендера на биополющенность свежеполученной и заморожено-оттаянной спермы нетрансгенных и трансгенных козлов проведены на Биотехнологическом научно-экспериментальном производстве по трансгенезу животных РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству».

Применялись БАВ – стимулятор крезацин и лактоферрин. В качестве разбавителя использовалась AndroMed среда. Центрифугирование проб проводилось на центрифуге Eppendorff MiniSpin (Германия), оценка подвижности спермиев – на компьютерном спермоанализаторе «Spermvision» (Minitube, Германия). В качестве источника озона использовался генератор озона «Алтай» модель JQ-888. Высокоочищенная вода перед ее использованием в качестве растворителя AndroMed среды подвергалась озонированию в течение 5, 10 и 15 минут для каждой из групп.

Объектом исследований являлась сперма, полученная от трансгенных (n=5) и нетрансгенных (n=6) козлов-производителей зааненской породы в возрасте двух-трех лет живой массой 50-55 кг. Сперма собиралась мануальным методом при режиме взятия одна садка в 4-5 дней. Свежеполученные неразбавленные эякуляты разбавлялись в соотношении 1:1 AndroMed средой, разведенной высокоочищенной водой, предварительно подвергшейся озонированию в течение 5 (опыт 1), 10 (опыт 2) и 15 (опыт 3) минут, соответственно, перед центрифугированием. Центрифугирование проводилось в конических пробирках Eppendorf в течение 5 мин. при 1500 об./мин. По окончании надосадочную жидкость удаляли, готовый центрифугат выдерживался в течение 1 часа при комнатной температуре с добавлением поддерживающей среды (ПС), после чего разбавлялся AndroMed-средой до нужной концентрации спермиев (500 млн./мл).

После определения оптимальных режимов озонирования воды для растворения AndroMed-среды в нее внеслось 0,3 г крезацина (опыт 4) и 1,5 мг лактоферрина (опыт 5) в расчете на 100 мл растворителя (дозировка БАВ установлена на ос

новании данных предыдущих исследований). В качестве контроля для растворения AndroMed среды использовалась высокоочищенная не озонированная вода.

Результаты исследований. Данные по двигательной активности спермы козлов при различных режимах озонирования воды представлены в таблице 1. Значение показателя подвижности сперматозоидов контрольной группы за время хранения в течение 24 часов без использования озонированного разбавителя составило 5,1 балла или 67,1% по отношению к свежеполученной сперме, в опыте №1 – 6,5 балла или 87,8%, в опыте № 2 – 6,7 балла или 89,3%, в опыте 3 – 6,6 балла или 86,8%, соответственно ($P<0,01$). Не наблюдалось существенных различий между опытными группами эякулятов трансгенных и не трансгенных животных. Озонирование воды в течение 10 минут позволило в наибольшей степени (89,3%) среди исследуемых режимов озонирования и на 22.2 п.п. больше по сравнению с контролем, сохранить двигательную активность сперматозоидов после центрифугирования и 24-часового культивирования.

Таблица 1 – Динамика двигательной активности сперматозоидов козлов-производителей при использовании различных временных вариантов озонирования воды для ПС

Группы	Подвижность спермы, баллы					
	Свежеполученная		спустя 1 час		спустя 24 часа	
	транс- генные козлы	нетранс- генные козлы	трансген- ные козлы	нетранс- генные козлы	трансген- ные козлы	нетранс- генные козлы
Кон- троль	7,6±0,08	7,5±0,09	6,9±0,15	7,0±0,15	5,1±0,19**	5,0±0,18
Опыт 1	7,4±0,11	7,4±0,10	7,4 ±0,17*	7,4±0,13*	6,5±0,19**	6,4±0,17**
Опыт 2	7,5±0,09	7,5±0,11	7,5±0,11**	7,5±0,14*	6,7±0,21**	6,6±0,16**
Опыт 3	7,6±0,06	7,5±0,07	7,6±0,11**	7,5±0,15*	6,6±0,19**	6,5±0,14**

Примечание: Здесь и далее * $P<0,05$, ** $P<0,01$

Результаты комплексного влияния биологически активных веществ и озонирования на свежеполученную сперму козлов-производителей представлены в таблице 2. Результаты эксперимента указывают на то, что активность сперматозоидов контрольной группы после 24-часового культивирования сохранилась на уровне 68,4% по сравнению со свежеполученной спермой. Данный показатель в группе № 4 составил 88,0% ($P < 0,01$), в группе №5 – 90,7% ($P < 0,01$). Таким образом подвижность сперматозоидов в контроле снизилась на 2,4 балла, в 4 и 5 группах, соответственно, на 0,9 и 0,7 балла. Аналогичные результаты по подвижности сперматозоидов наблюдались и у нетрансгенных козлов-производителей.

Таблица 2 – Динамика показателя двигательной активности сперматозоидов козлов-производителей при использовании различных БАВ в сочетании с озонированной водой для ПС

Группы	Подвижность спермы, баллы					
	свежеполученная		спустя 1 час		спустя 24 часа	
	трансгенные козлы	нетрансгенные козлы	трансгенные козлы	нетрансгенные козлы	трансгенные козлы	нетрансгенные козлы
Контроль	7,6±0,10	7,5±0,11	7,0±0,14	7,0±0,15	5,2±0,21	5,0±0,18
Опыт 4	7,5±0,09	7,4±0,10	7,4 ±0,16*	7,4±0,13*	6,6±0,19**	6,4±0,19**
Опыт 5	7,5±0,09	7,5±0,12	7,5±0,11*	7,5±0,14*	6,8±0,20**	6,7±0,17**

Далее было изучено влияния озонирования в сочетании с биологически активными веществами на качество спермы козлов при ее криоконсервировании. Для этого было сформировано две опытные группы по 20 спермодоз в каждой. Для спермы первой опытной группы использовалась AndroMed-среда, растворенная на озонированном растворителе с добавлением крезацина, для второй – с добавлением лактоферрина, в дозировках, обеспечивающих сохранение наивысших показателей подвижности сперматозоидов, установленных в предыдущих экспериментах. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Влияние озонирования и биологически активных веществ на полноценность спермы козлов-производителей при ее криоконсервировании

Группа	Подвижность спермы, баллы						
	перед замораживанием	после оттаивания	время хранения				
			1 час	2 часа	3 часа	4 часа	5 часов
Контроль	7,7	6,2±0,18	4,3±0,33	1,6±0,19	–	–	–
Опыт 1	7,6	6,1±0,2	4,3±0,28	3,1±0,18	1,1±0,15	–	–
Опыт 2	7,6	6,1±0,19	4,6±0,21	3,5±0,17	1,9±0,1	1,0±0,22	–

Данные таблицы 3 указывают на снижение качества спермы после оттаивания во всех исследуемых группах в среднем на 1,5 балла. В контрольной группе после 1 часа хранения при температуре 16-18°C данный показатель составил 1,9

балла, за последующий час хранения значение показателя снизилось еще на 2,7 балла, а после 3 часов хранения заморожено-оттаянных эякулятов не было выявлено подвижных спермиев.

В 1 опытной группе выявлено снижение подвижности половых клеток после 1 часа хранения на 1,8 балла, после 2 часов – на 1,2 балла, после 3 часов – еще на 2,0 балла, до 1,1. Полная потеря подвижности была установлена спустя 4 часа хранения эякулятов.

Во 2 опытной группе подвижность снизилась после 1 часа хранения на 1,5 балла, а спустя 4 часа хранения составляла 1,0 балл. Переживаемость половых гамет составила 5 часов.

Сравнивая лучший показатель подвижности спермы при использовании различных БАВ прослеживается незначительное его увеличение при использовании лактоферрина совместно с озонированием разбавителя по сравнению с крезацином – на 0,1-0,3 балла на свежеполученной сперме и на 1 час по показателю полноценности при ее криоооконсервировании.

Заключение. 1. Озонирование высокоочищенной воды для растворения AndroMed среды в течение 10 минут с последующим внесением в ее состав 1,5 мг лактоферрина позволило получить более высокие результаты спустя 24 часа хранения разбавленных эякулятов по показателю подвижности половых гамет козлов, снижение показателя которого составило 0,8-1,0 балл, в контрольной – 2,4-2,5 балла.

2. Установлено, что двигательная активность заморожено-оттаянных сперматозоидов козлов-производителей при использовании озонированной среды с добавлением 1,5 мг лактоферрина превышает на 1 час опытную группу эякулятов с использованием крезацина, и на 2 часа контроль.

Литература. 1. Шейко, Е. И. Регуляция спермопродукции у хряков простогландином F2α / Е. И. Шейко, Н. М. Решетникова, А. Н. Шлыгин // Использование гормональных препаратов в животноводстве : тез. докл. Всесоюз. науч.-техн. конф., посвящ. 100-летию со дня рожд. акад. М.М. Заводовского, пос. Дубровицы, 1-2 окт., 1991. – Москва, 1991. – С. 32–33. 2. Гуськов, А. М. Стимуляция воспроизводительной функции животных препаратами стероидной природы / А. М. Гуськов, Г. И. Пузынина // Использование гормональных препаратов в животноводстве : тез. докл. Всесоюз. науч.-техн. конф., посвящ. 100-летию со дня рожд. акад. М.М. Заводовского, пос. Дубровицы, 1-2 окт., 1991. – Москва, 1991. – С. 65–67. 3. Аппараты «Биоптрон» действие и лечебное применение : сб. ст. / под ред. проф. В.С. Улащика. – Минск, 2001. – 144 с.

УДК 636.2.082.4:636.2.09-026.656

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В СОСТАВЕ КРИОЗАЩИТНЫХ РАСТВОРОВ НА СОХРАННОСТЬ ДЕКОНСЕРВИРОВАННЫХ ЗАРОДЫШЕЙ КОРОВ-ДОНОРОВ

Будевич А.И., Кирикович Ю.К., Сапсалева С.А., Жданович В.В., Пайтеров С.Н.

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь