

нетелями и не обладает видимыми побочными действиями на организм животных.

Литература. 1. Анализ структуры заболеваемости крупного рогатого скота в Республике Беларусь / П. А. Красочко [и др.] // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2022. – № 2 (17). – С. 38–42. 2. Валюшкин, К. Д. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных : учебник / К. Д. Валюшкин, Г. Ф. Медведев. – 2-е изд., перераб. и доп. – Минск : Ураджай, 2001. – 869 с. 3. Изучение этиологии и распространение акушерско-гинекологических заболеваний / П. А. Красочко [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных и пути их решения : материалы Международной научно-практической конференции, посвященной Дню Белорусской науки и 95-летию кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней, Витебск, 15-16 декабря 2022 г. / УО ВГАВМ ; редкол. : Н. И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2023. – С. 195–198. 4. Красочко, П. А. Использование активной фармацевтической субстанции при патологических родах / П. А. Красочко, М. А. Понаськов, А. А. Гарбузов // Продовольственная безопасность в агропромышленном комплексе : материалы IV Международной научно-практической конференции, г. Тирасполь, 23 ноября 2023 года / Приднестровский государственный университет им. Т. Г. Шевченко. - Тирасполь : Изд-во Приднестровского университета, 2024. - С. 150-155. 5. Медведев, Г. Ф. Акушерство, гинекология и биотехнология размножения сельскохозяйственных животных. Практикум : учебное пособие / Г. Ф. Медведев, К. Д. Валюшкин. – Минск : Беларусь, 2010. – 456 с. 6. Медведев, Г. Ф. Физиология и патология репродуктивной системы крупного рогатого скота : монография / Г. Ф. Медведев, Н. И. Гавриченко. – Горки : БГСХА, 2006. – 214 с.

УДК 636.3.082.453.53.2

АПРОБАЦИЯ ПРОТОКОЛА КРИОКОНСЕРВАЦИИ СПЕРМЫ БАРАНОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Пушкина В.С., Корочкина Е.А.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Данная работа направлена на разработку корректного протокола криоконсервации спермы баранов-производителей. Было отобрано 10 образцов от баранов романовской породы, проведена оценка полученного семени, подготовка и сама криоконсервация с последующим оттаиванием. Наблюдалось постепенное снижение прогрессивно двигающихся сперматозоидов спустя 2 часа инкубации после оттаивания в 1,9 раз ($p < 0,05$) и достоверное снижение скорости прямолинейного движения головки сперматозоидов (VSL) в 2,2 ($p < 0,05$) и 2,9 ($p < 0,01$) раз в течение 1.5 часа после охлаждения и 0 часов после оттаивания по сравнению со значением после взятия спермы. Апробированный протокол указывает на

необходимость создания и разработки новых протекторных механизмов.
Ключевые слова: протокол криоконсервации, сперма, бараны-производители.

APPROBATION OF THE PROTOCOL OF CRYOPRESERVATION OF RAM SPERM

Pushkina V.S., Korochkina E.A.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg,
Russian Federation

*This work is aimed at developing a correct protocol for cryopreservation of sperm from sheep producers. 10 samples from rams of the Romanov breed were selected, the obtained seed was evaluated, pre-preparation and cryopreservation itself followed by thawing. There was a gradual decrease in progressively moving spermatozoa after 2 hours of incubation after thawing by 1,9 times ($p < 0.05$) and a significant decrease in the speed of rectilinear movement of the sperm head (VSL) by 2,2 ($p < 0,05$) and 2.9 ($p < 0,01$) times during 1,5 hours after cooling and 0 hours after thawing compared with the value after taking the sperm. The approved protocol indicates the need to create and develop new tread mechanisms. **Keywords:** cryopreservation protocol, sperm, breeding sheep.*

Введение. В вопросе развития овцеводства существует проблема криоконсервации семени баранов-производителей, а именно, низкий процент выживаемости сперматозоидов после оттаивания. На криорезистентность мужских половых клеток влияют такие факторы как концентрация криопротекторных веществ, скорость охлаждения, наличие семенной плазмы и здоровье самца. Для успешной заморозки, хранения и дальнейшего оттаивания эякулята баранов-производителей научно-исследовательская работа многих ученых направлена на разработку протоколов криоконсервации и поиск современных криопротекторов. Целью данной работы является апробация протокола криоконсервации спермы баранов-производителей с определением влияния данного процесса на кинематические показатели сперматозоидов.

Материалы и методы исследований. Исследование было проведено в лаборатории на кафедре генетических и репродуктивных биотехнологий на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Было проведено взятие и исследование спермы баранов романовской породы ($n=10$). Отбор проб был произведен с помощью искусственной вагины модели IMV (Франция) согласно ГОСТ 32222–2013 [2].

После отбора проводили макро- и микроскопическую оценку полученных проб. При макроскопической оценке проводили исследование объема, запаха и цвета спермы, при микроскопической – подвижности, особое внимание обращали на кинематические показатели сперматозоидов.

Исследование проводилось с помощью микроскопа Levenhuk MED 45T. Оценка подвижности сперматозоидов проводилась с использованием программы Аргус-CASA. Полученные образцы были разведены в соотношении 1:100. Оценка аликвоты спермы производилась с использованием камеры Маклера. При оценке подвижности учитывались следующие показатели: VAP –

средняя скорость движения головки по усредненной траектории, мкм/сек; VSL – скорость прямолинейного движения головки, мкм/сек; VCL – средняя скорость движения сперматозоидов по реальной траектории, мкм/сек; ALH – среднее отклонение головки, мкм; BCF – частота колебательных усредненных движений, Гц; STR – степень прямолинейности направленного движения сперматозоидов, %; LIN – степень волнистости треков, %; WOB – процент осцилляции, % [1].

Важным этапом в подготовке эякулята к процессу криоконсервации является центрифугирование (режим: 7000 об/мин в течение 15 минут), и последующее удаление семенной плазмы [3].

Для разбавления спермы был использован разбавитель OptiXcell (IMV, Франция). Образцы разбавляли в соотношении 1:4, далее - охлаждали при температуре + 4 °С в течение 1,5 часов. После чего производили ручную упаковку разбавленной спермы при помощи микропипетки (Minitube) и пайет объемом 0,25 мл при температуре + 4 °С. Протокол заморозки образцов спермы состоял из двух этапов: 1 - соломинки помещали в гоблеты и далее - стаканы 4 см над жидким азотом на 10 минут; 2 – полное погружение в жидкий азот для дальнейшего хранения. Оттаивание спермы производилось при температуре +37 °С в течение 30 сек [3].

Оценку качественных показателей спермы производили в пять этапов: после взятия спермы, 1,5 часа после охлаждения, после оттаивания: 0 часов, 1 час и 2 часа.

Статистическая обработка данных была проведена при помощи программы Stattech и Medstatistic «Медицинская Статистика» с вычислением показателей вариационного ряда и t-критерий Стьюдента.

Результаты исследований. Согласно результатам макроскопической оценке, сперма была белого цвета с желтоватым оттенком, имела запах жиропота, объем в среднем составлял $0,5 \pm 0,03$ мл.

Что касается подвижности, наблюдалось постепенное снижение прогрессивнодвигающихся сперматозоидов спустя 2 часа инкубации после оттаивания в 1,9 раз ($p < 0,05$). Соответственно, количество неподвижных-возрастало с каждым часом инкубации в 1,06 ($p < 0,05$) и 1,3 ($p < 0,05$) раз 1 и 2 часа по сравнению со значением 0 часов после оттаивания.

Анализ показателей подвижности сперматозоидов баранов до и после криоконсервации приведен в таблице.

Таблица – Показатели подвижности сперматозоидов баранов до и после криоконсервации (n=10)

Время проведения	Показатели подвижности							
	VSL, мкм/сек	VCL, мкм/сек	LIN, %	VAP, мкм/сек	WOB, %	STR, %	ALH, мкм	BCF, Гц
0 часов после взятия	606,63±132,9	738,4±138,1	74,9±7,1	630,4±135,5	78,6±6,6	94,1±1,8	2,5±0,3	2206,6±489,3
1,5 часа после охлаждения	276,1±54,0**	405,1±68,7	68,5±6,5	307,7±55,6**	77,3±4,7	87,4±4,1	2,1±0,3	2291,3±717,5
0 часов после оттаивания	202,7±34,9*	256,4±38,8*	71,5±7,4	220,0±35,4*	76,9±5,6	91,5±4,5	1,9±0,5	1353,6±468,2

Время проведения	Показатели подвижности							
	VSL, мкм/сек	VCL, мкм/сек	LIN, %	VAP, мкм/сек	WOB, %	STR, %	ALH, мкм	BCF, Гц
1 час после оттаивания	302,5± 120,6	402,5± 132,8	67,2±7,4	320,4± 125,7	72,1±6,8	92,4±2,4	2,1±0,4	1234,7± 494,2
2 часа после оттаивания	300,4± 110,8	425,0± 124,8	61,1±7,6	315,8± 113,4	66,4±6,1	89,2±6,2	2,0±0,4	1806,1± 500,1

Примечания: * - $p < 0,01$, ** - $p < 0,05$ (достоверно по сравнению с результатами 0 часов после взятия спермы).

Согласно данным таблицы 1, наблюдалось достоверное снижение скорости прямолинейного движения головки сперматозоидов (VSL) в 2,2 ($p < 0,05$) и 2,9 ($p < 0,01$) раз в течение полутора часов после охлаждения и 0 часов после оттаивания по сравнению со значением после взятия спермы. Такая же динамика наблюдалась при анализе средней скорости движения головки по усредненной траектории (VAP). Что касается средней скорости движения сперматозоидов по реальной траектории (VCL), то статистически значимые изменения прослеживались 0 часов после оттаивания в 2,9 ($p < 0,01$) раз по сравнению со значением после взятия спермы. Остальные данные не являются статистически значимыми.

Заключение. Сперматозоиды баранов-производителей высокочувствительны к перепаду температур. Процесс криоконсервации наносит значительные ультраструктурные повреждения сперматозоидам, что негативно влияет на их подвижность и оплодотворяющую способность в дальнейшем. В связи с этим важным является подбор актуального протокола и его полное соблюдение в процессе заморозки и оттаивания семени.

Литература. 1. Баженова, Н. Б. Оценка качества спермы животных / Н. Б. Баженова, К. В. Племяшов. – Санкт-Петербург : «Издательство СПбГАВМ», 2007. – 22 с. 2. ГОСТ 32222–2013. Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб. – Введен 2015-01-27. – Москва : Стандарт информ, 2018. – 10 с. 3. Качество спермы баранов до и после криоконсервации / Е. А. Корочкина, Е. Ю. Финагеев, Д. Е. Главацкая, В. С. Пушкина // *Ветеринария*. – 2023. – № 8. – С. 34–38.

УДК 556.597/574

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ И ГИДРОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОЗЕРА АККЁЛЬ

Рамазанова Д.М., Каспарова М.А., Сайпулаев У.М.

Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр РД», г. Махачкала, Российская Федерация

Интенсивное антропогенное воздействие приводит к ухудшению качества водной среды и экологического состояния водоёмов, снижению