

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНОЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ СПЕРМЫ ПЕРЕД ЗАМОРАЖИВАНИЕМ НА ЕЕ КАЧЕСТВО И ОПЛОДОТВОРЯЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ СВИНОМАТОК

*Ескин Г.В., ** Нарижный А.Г.

*ОАО ЦСИО с.х. животных, ** ВИЖ, Россия

Подготовка спермы к замораживанию заключается в ее разбавлении, цель которой – создание окружающей среды, которая может защитить половые клетки от повреждений в процессе криоконсервирования. Кроме того, при разбавлении увеличивается объем, что дает возможность разделить эякулят хряка на несколько спермодоз. После получения спермы ее как можно быстрее нужно разбавить, чтобы предотвратить процессы интоксикации. Среда для разбавления спермы хряков должна содержать такой набор осмотически активных компонентов, которые в определенных соотношениях смогли бы обеспечить спермиям оптимальные физико-химические параметры (рН, осмолярность, соотношение полярных и неполярных соединений, ионов и др.), а также предохранить сперму от температурного шока, криоповреждений и микробной контаминации.

Кроме процесса разбавления спермы, существует ряд технологических приемов, позволяющих подготовить сперму к глубокому замораживанию. К таким приемам относят различные способы инкубации спермы, применение анаэробных условий, введение антиоксидантов. Кроме того, для лучшей переживаемости спермиев при криоконсервировании используют и различные приемы концентрирования спермы (фильтрацию, отстаивание, центрифугирование), а также способы разбавления спермы. В настоящее время разработано три варианта криопротекторной обработки спермы: первый – без концентрирования сперматозоидов; второй – с концентрированием сперматозоидов; третий – диализом (2,3,4).

В первом варианте может быть использован цельный эякулят. После взятия сперму выдерживают при комнатной температуре (16-20°C) в течение часа, включая в этот период ее фильтрацию и оценку. Затем сперму разбавляют в соотношении 1:1 средой следующего состава: 50г лактозы, 16г глюкозы, 8г этилендиаминтетраацетата динатриевой соли (ЭДТА), 3г триаммония цитрата трехзамещенного, 0,6г оксида кальция, 0,4г оксида магния, 0,3г гидроксида натрия, 0,1г гидроксида калия, 40 мл глицерина, 50 мл желтка куриного яйца, 1 л дистиллированной воды. Для разбавления спермы можно использовать среду другого состава: лактоза – 84г, глюкоза – 6г, ЭДТА (динатриевая соль) – 4г, триаммоний цитрат – 2г, трис-(оксиметил)-аминометан – 0,6г, глицерин – 40 мл, желток куриного яйца – 50 мл, вода дистиллированная – 1000 мл.

Разбавленную сперму (1:1) помещают в бытовой холодильник с температурой +5°C и выдерживают в нем 4-6 ч, после чего сперма готова для замораживания. Этот способ криопротекторной обработки спермы рассчитан на замораживание больших объемов спермы (одна доза цельного эякулята занимает объем 100 мл). Н.Кобран и др. (1980) предложили прием концентрирования спермиев путем отстаивания их в делительной воронке и охлаждении до 0°C. Концентрирование спермы также можно добиться, получая сперму мануальным методом. При этом во время эякуляции собирают в спермоприемник лишь густую фракцию спермы, удаляя секреты уретральных и добавочных желез.

В поисках безвредных способов сокращения объема дозы замороженной спермы была испытана возможность введения в нее криопротективных компонентов в диализном устройстве, не прибегая к разбавлению (третий вариант).

Такая обработка спермы имеет преимущества не только технологические, но и криобиологические – повышается сохранность отдельных структур сперматозоидов при замораживании, в частности акросомы. Для диализной обработки спермы используют среду следующего состава: лактоза – 84г, глюкоза – 6г, ЭДТА (динатриевая соль) – 4г, триаммоний цитрат – 2г, трис-(оксиметил)-аминометан – 0,6г, глицерин – 40 мл, желток куриного яйца – 50 мл, вода дистиллированная – 1000 мл (1).

Диализ спермы осуществляется в специальном трехкамерном диализном устройстве. При подготовке к криоконсервированию методом диализа боковые пространства заполняются через резиновые трубки средой в соотношении сперма : среда – 1:2, а в среднее пространство заливается сперма. В этот момент и сперма и среда должны иметь температуру 30°C. Заполнять среднюю часть камеры можно при помощи 20 – миллиметрового шприца без иголки и поршня, используемого как миниворонка. После полной заправки камеры ее помещают в термостат с температурой +15°C и выдерживают при этом в течение 4-5 ч, затем вынимают и сливают сперму через отверстие в торце центральной части.

После диализной обработки в сперму добавляют смесь желтка куриного яйца и изотонического (2,9%) раствора цитрата натрия (1:1) в количестве 10% от объема спермы. После тщательного, но осторожного перемешивания колбу со спермой, предварительно закрытую стеклянной или ватной пробкой помещают в шкаф холодильника с температурой +5°C и выдерживают в течение часа. За этот период сперма охладится до заданной температуры, после чего ее подвергают глубокому замораживанию.

Целью данных исследований было изучение качества спермы и ее оплодотворяющей способности при разных способах ее обработки перед замораживанием.

Материал и методика исследований. В исследованиях использовали сперму хряков-производителей крупной белой породы в возрасте 2-3 лет, которую получали мануальным способом в ЗАО племзавод «Константиново» Московской области. Замораживание проводили на ЦСИО сельскохозяйственных животных Московской области, а осеменение свиноматок – в ООО «Стройпластмасс-Агропродукт» Ульяновской области.

В первом варианте замораживали сперму, разбавленную обычным способом, во втором – сперму, полученную мануальным способом (густая фракция без секретов добавочных половых желез) и в третьем –

сперму, разбавленную с помощью диализа. В каждом из способов разбавления использовали по 50 эякулятов.

При определении качества спермы определяли показатели подвижности спермиев после замораживания-оттаивания и показатели сохранности акросом спермиев.

При изучении показателей воспроизводства определяли процент оплодотворяемости и многоплодия свиноматок.

Результаты исследований. Из таблицы 1 следует, что выживаемость спермы (30% и более) наилучшая при ее диализной обработке (88%), при этом всего 12% эякулятов не пригодных к использованию. Хорошие показатели и при концентрировании спермы путем получения ее мануальным способом (80%). При обычном разбавлении спермы практически половина эякулятов (44%) не пригодна для осеменения.

Таблица 1. Влияние различных способов обработки спермы перед замораживанием на ее подвижность после оттаивания

Обработка спермы	Подвижность оттаянной спермы (%)				
	10	20	30	40	50
Обычная разбавленная					
Число эякулятов	12	11	10	9	8
%	24	22	20	18	16
Концентрированная разбавленная					
Число эякулятов	4	6	15	15	10
%	8	12	30	30	20
Диализированная					
Число эякулятов	2	4	14	17	13
%	4	8	28	34	26

Более полную характеристику биологической полноценности спермиев дают исследования структурной целостности акросомы. Чем выше сохранность акросом в спермиях, тем выше оплодотворяющая способность.

В таблице 2 показана сохранность акросом спермиев в зависимости от способов обработки спермы.

При замораживании концентрированной спермы 30,0% эякулятов имеет сохранность акросом 51-60%, а при обработке спермы диализом – 36% эякулятов, что в первом случае превышает обычное разбавление на 12,0%, а во втором – на 18,0%. Сохранность акросом более 60% имеет небольшое количество эякулятов и по группам этот показатель составляет 14,0; 10,0 и 10,0%. При обычном разбавлении спермы 46,0% эякулятов имеют очень низкую сохранность акросом (48,0%) а при диализе спермы этот показатель снижается до 26,0%.

В таблице 3 приведены данные по оплодотворяемости свиноматок замороженно-оттаянной спермой при различных способах ее обработки перед замораживанием.

Из таблицы 3 следует, что для осеменения свиноматок нельзя использовать замороженно-оттаянную сперму с подвижностью 10-30%, так как результативность осеменения крайне низкая. Начиная с 40% и выше при различных способах разбавления спермы получают приемлемые результаты.

Оплодотворяемость свиноматок при диализном методе разбавления спермы выше на 7,3% по сравнению с обычным разбавлением и на 3,3% по сравнению с концентрированием спермы при 40% подвижности, а при 50% подвижности этот показатель выше на 10,0 и 6,2%.

Многоплодие, начиная с 40%-ной подвижности спермиев было практически одинаковым во всех группах, но самые высокие показатели наблюдались при осеменении спермой, разбавленной диализом.

Таблица 2. Влияние разных способов обработки спермы перед замораживанием на сохранность акросом спермиев

Обработка спермы	Сохранность акросом спермиев (%)				
	до 31	31-40	41-50	51-60	Более 60
Обычная разбавленная					
Число эякулятов	13	11	10	9	7
%	26	22	20	18	14
Концентрированная разбавленная					
Число эякулятов	10	8	12	15	5
%	20	16	24	30	10
Диализированная					
Число эякулятов	7	6	14	18	5
%	14	12	28	36	10

Таблица 3. Влияние разных способов обработки спермы перед замораживанием на оплодотворяемость свиноматок

Обработка спермы	Подвижность оттаянной спермы (%)				
	10	20	30	40	50
Обычная разбавленная					
Осеменено, гол.	10	10	10	10	10
Опоросилось:					
число	1	2	3	5	5
%	10	20	30	50	50
Родилось поросят:					
всего живых	8	17	27	46	47
на 1 матку	8	8,5	9,0	9,2	9,4
Концентрированная разбавленная					
Осеменено, гол.	12	12	12	12	12
Опоросилось:					
число	2	3	4	6	7
%	16,7	27	33,3	50,0	53,8
Родилось поросят:					
всего живых	17	27	37	56	66
на 1 матку	8,5	9,0	9,25	9,33	9,43
Диализированная					
Осеменено, гол.	14	14	15	15	15
Опоросилось:					
число	2	4	5	8	9
%	14,3	28,6	35,7	53,3	60,0
Родилось поросят:					
всего живых	18	37	47	76	86
на 1 матку	9,0	9,25	9,4	9,5	9,55

Выводы. Таким образом, при сравнении трех способов обработки спермы перед замораживанием установлено, что наилучшие результаты по подвижности, сохранности акросом спермиев при замораживании-оттаивании наблюдаются при диализной обработке спермы. Аналогичные результаты наблюдаются и по оплодотворяемости свиноматок.

При невозможности обработать сперму с помощью диализа хорошие показатели наблюдаются при использовании концентрированной разбавленной спермы, полученной от хряков-производителей мануальным способом.

Литература: 1. Кононов В.П. Среды для замораживания спермы / В.П.Кононов, Н.А.Голышев, Э.Хачапуридзе // Свиноводство.- 1975.- № 11. 2. Милованов В.К. Поросята от замороженного семени / В.К.Милованов, Н.А.Голышев и др. // Животноводство, 1973-1974.- № 12. 3. Кононов В.П. Технология замораживания семени хряков / В.П.Кононов, А.Г.Нарижный // Животноводство, 1981.- № 7.- с.54-56. 4. Кононов В.П. Перспектива замораживания спермы / В.П.Кононов, А.Г.Нарижный, В.Галич // Свиноводство, 1991.- № 4.- с.26-27. 5. Корбан Н.В. Методические рекомендации по низкотемпературной консервации спермы хряков / Н.В.Корбан, Л.Г.Мороз, И.Ш.Шапиев // Л., 1980.- 61 с.

УДК 636,235.082.453,52

КАЧЕСТВО И ОПЛОДОТВОРЯЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ СПЕРМЫ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНОЙ СЕЛЕКЦИИ

Заневская Я.К., Заневский К.К., Глаз А.В., Голубец Л.В.

УО «Гродненский государственный аграрный университет», Республика Беларусь

Результаты исследований показали, что в условиях РУСП «Гродненское племпредприятие» у быков-производителей различного генотипа уровень и качество спермопродукции были неодинаковы. Производителям указанных генотипов достоверно различались по объему эякулята, активности и концентрации сперматозоидов, а также по общему количеству сперматозоидов в эякуляте ($p < 0,001$). Наилучшая выживаемость сперматозоидов (4,4±0,1 часа) наблюдалась у быков-производителей венгерской селекции. По выживаемости сперматозоидов быки-производители венгерской селекции достоверно ($p < 0,01$) превосходили только производителей белорусской селекции. Наивысшие показатели спермопродукции у быков-производителей этих селекции наблюдались в весенний период, а самые низкие летом (объем эякулята и общее количество сперматозоидов $p < 0,01$; концентрация $p < 0,05$).

Results of researches have shown, that in conditions of RUE «Grodno breeding enterprise» at bulls-sires of a various genotype the level and quality of spermoproduction was a different. Sires of the specified genotypes authentically differed on volume of an ejaculate, activity and concentration of spermatozoa, and also on total of spermatozoa in an ejaculate ($p < 0,001$). The best survival rate of spermatozoa (4,4±0,1 hours) was observed at