DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-4-7

УДК 619:636.4.576

Эффективность замораживания спермы хряков в зависимости от времени эквilibрации при охлаждении

Ткачев А.В., доктор сельскохозяйственных наук, профессор. Белгородский государственный аграрный университет им. В.Я.Горина, Белгород, sasha_sashaola@mail.ru

Ключевые слова: хряки, сперма, время эквilibрации, охлаждение, замораживание.

Резюме В связи с интенсивным развитием отрасли свиноводства в России увеличивается количество племенных и товарных свиноводческих предприятий, которые расширяют практическое применение заморожено-оттаянной спермы выдающихся хряков с целью недопущения инбридинга и усиления эффекта гетерозиса. Целью нашей работы явилось установление эффективности замораживания спермы хряков в зависимости от сокращения времени эквilibрации. При разбавлении эякулята общепринятым разбавителем ГХЦС подвижность спермиев была наименьшей, что на 3,16 % меньше ($p < 0,01$) разбавителя BTS и на 3,33 % меньше ($p < 0,01$) от "Екосперм". Наилучшая подвижность спермиев после размораживания наблюдалась при применении разрабатываемого нами разбавителя, что на 9,0 % больше ($p < 0,001$) от разбавителя ГХЦС, на 5,84 % больше ($p < 0,01$) BTS и на 5,67 % больше ($p < 0,01$) Екосперм. Таким образом, перспективным направлением исследований в физиологии и биотехнологии воспроизводства свиней является сокращение времени охлаждения спермы хряка перед замораживанием. Решение данной проблемы возможно с помощью разработки новых разбавителей с высокими мембраностабилизирующими свойствами.

Введение

В связи с интенсивным развитием отрасли свиноводства в России увеличивается количество племенных и товарных свиноводческих предприятий, которые расширяют практическое применение заморожено-оттаянной спермы выдающихся хряков с целью недопущения инбридинга и усиления эффекта гетерозиса. Применение заморожено-оттаянной спермы оправдывает себя для решения широкого спектра проблем: сохранения генетических ресурсов выдающихся производителей, лучшая санитарная защита хозяйств, повышение продуктивности поголовья. Однако главными проблемами, которые сдерживают широкое практическое применение заморожено-оттаянной спермы хряков является: значительное снижение подвижности и оплодотворяющей способности спермиев после деконсервации; большая длительность технологической процедуры охлаждения и замораживания эякулятов; нерешенность проблемы "одна спермодоза – одна доза для осеменения".

Изменения в спермиях хряков, которые повышают ус-

Boar semen freezing efficiency depending on the equilibration time during cooling

Tkachev A.V., Belgorod State Agricultural University named after V. Gorin

Key words: boars, semen, equilibration time, cooling, freezing.

Abstract. Due to the intensive development of the pig breeding industry in Russia, the number of breeding and commercial pig breeding enterprises is increasing, which expand the practical use of frozen boar sperm of outstanding boars in order to prevent inbreeding and enhance the effect of heterosis. The aim of our work was to establish the effectiveness of freezing boar semen depending on the reduction of the equilibration time. When the ejaculate was diluted with the conventional GCSS diluent, the sperm motility was the lowest, which is 3.16% less ($p < 0.01$) BTS diluent and 3.33% less ($p < 0.01$) from Ecosperm. The best motility of sperm after thawing was observed when using the diluent developed by us, which is 9.0% more ($p < 0.001$) from the GCSS diluent 5.84% more ($p < 0.01$) BTS and 5.67% more ($p < 0.01$) Ecosperm. Thus, a promising area of research in the physiology and biotechnology of pig reproduction is to reduce the cooling time of boar semen before freezing. The solution to this problem is possible through the development of new diluents with high membrane stabilizing properties.

тойчивость к температурному шоку до сих пор до конца не выяснены. Одной из причин низкой резистентности спермиев хряков к охлаждению могут быть особенности липидного состава плазматических мембран и их текучесть [2-3]. При снижении температуры ограничения латерального движения фосфолипидов мембран могут привести к необратимым фазовым переходам отдельных групп фосфолипидов в результате чего плазматическая мембрана спермиев хряков постепенно разрушается. Кроме липидов большое значение на резистентность спермиев к охлаждению оказывают и другие компоненты мембран, например белки [1, 4]. Что указывает на необходимость разработки новых разбавителей для спермы хряков, которые будут повышать не только показатели подвижности спермиев после оттаивания, но и сохранять оплодотворяющую способность эякулята.

Оплодотворяющая способность заморожено-оттаянной спермы хряков находится в пределах 40–60 % против около 80 % свежеразбавленной спермы [9-10], что свидетельствует о сравнительно низкой криорезистентности спермы хряков по сравнению с другими видами животных с близкими физиологическими характеристиками нативных эякулятов, например с жеребцами [5-6]. В отличие от спермиев жеребцов, половые клетки хряков очень чувствительны к охлаждению [7-8]. В начале процедуры замораживания, первые клеточные повреждения спермиев хряков возникают в результате охлаждения с температуры спермы при эякуляции до температуры ниже 15 °C. В результате чего снижается жизнеспособность значительного количества сперматозоидов хряков. Если же разбавленную сперму хряка, выдерживать при температуре 22 °C около двух часов, затем около часа при 15 °C, сперматозоиды приобретают устойчивость к холодовому шоку; однако время эквilibрации при 2–5 °C после этого будет составлять 2–3 часа [2, 10]. Таким образом именно процедура охлаждения спермы хряков требует наибольшего времени и является самым трудоемким биотехнологическим этапом. А при необходимости длительной транспортировки от момента получения до замораживания может пройти и до 24 часов [3, 9].

Учитывая вышеизложенное, важной научно-практической проблемой требующей решения является изучение возможности сокращения времени эквilibрации спермы хряков перед замораживанием.

Для цитирования / For citation

Ткачев А.В. Эффективность замораживания спермы хряков в зависимости от времени эквilibрации при охлаждении / А.В. Ткачев // Ветеринария и кормление. - М., - 2019. - № 4. - С. 25-26

Tkachev A.V. Boar semen freezing efficiency depending on the equilibration time during cooling / A.V. Tkachev // Veterinaria i kormlenie. - М., - 2019. - № 4. - P.25-26

Целью нашей работы явилось установление эффективности замораживания спермы хряков в зависимости от сокращения времени эквilibрации.

Материал и методы.

Сперму получали от трех клинически здоровых половозрелых хряков крупной белой породы в возрасте 3–5 лет, живой массой 200 – 340 кг, которые содержались в колхозе имени В.Я.Горина Белгородского района на сухом сбалансированном рационе. Эякуляты получали мануальным методом 1 раз в 4–5 дней. Исследование проводили на разделенных эякулятах. Каждый эякулят делили на 4 части и разбавляли различными разбавителями: ГХЦС (глюкозо-хелато-цитратно-сульфатная), "BTS", "Екосперм", разрабатываемый нами разбавитель. Разбавление, охлаждение и криоконсервирование эякулятов выполняли по разрабатываемой нами биотехнологии с применением разработанного нами устройства для двухэтапного замораживания [7–8]. Объем спермодозы – 5 мл, концентрация спермиев 450–500 млн/мл. Нативный эякулят выдерживали перед разбавлением 30 минут. Плазму спермы отделяли от спермиев путем центрифугирования, аспирировали супернатант и заново разбавляли спермии четырьмя исследуемыми разбавителями. Затем 30 минут выдерживали при температуре 22 °С. После чего 30 минут выдерживали при температуре 15 °С и 90 минут – при 2–5 °С. После чего выполняли замораживание в разработанном нами устройстве. Таким образом, от момента получения эякулята до замораживания проходило около 3 часов. Подвижность спермиев хряка определяли в системе Sperm Vision ("Minitube", Германия). Целостность плазматических мембран сперматозоидов хряка определяли на цитометре DAKO Galaxy.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ SPSS ("IBM", USA).

Результаты исследования.

Для проведения исследования были отобраны эякуляты хряков с подвижностью спермиев не менее 70 %, средняя подвижность составила 74,83 %. Средний объем эякулята составил 236,75±7,51 мл, а концентрация – 255,58±4,85 млн/мл. Процент патологических форм спермиев в эякулятах был в пределах физиологической нормы 12,83±0,98. После получения каждый эякулят делили на 4 равные части, разбавляли разными разбавителями и замораживали по разрабатываемой нами биотехнологии с сокращением времени эквilibрации спермы до 3 часов против 6 часов классических методик.

Из данных таблицы видно, что сокращение времени охлаждения спермы хряков до 3 часов в целом отрицательно сказалось на подвижности спермиев после размораживания. Однако это зависело от применяемого разбавителя. При разбавлении эякулята общепринятым разбавителем

Таблица 1. Физиологические характеристики спермы хряков (M±m, n=12)

Показатель	Сперма	
	нативная	оттаянная
ГХЦС		
Подвижность спермиев, %	74,83 ±1,65	19,42 ±0,68
Сохранность мембран спермиев, %	83,58 ±2,20	37,50 ±1,19
Переживаемость спермиев при 37 °С	-	1,79 ±0,13
«BTS»		
Подвижность спермиев, %	74,83 ±1,65	22,58 ±0,85**
Сохранность мембран спермиев, %	83,58 ±2,20	41,67 ±1,29*
Переживаемость спермиев при 37 °С	-	2,13 ±0,11
«Екосперм»		
Подвижность спермиев, %	74,83 ±1,65	22,75 ±0,87**
Сохранность мембран спермиев, %	83,58 ±2,20	41,00 ±1,56**
Переживаемость спермиев при 37 °С	-	2,17 ±0,11*
Разрабатываемый разбавитель		
Подвижность спермиев, %	74,83 ±1,65	28,42 ±1,09***
Сохранность мембран спермиев, %	83,58 ±2,20	52,08 ±1,59***
Переживаемость спермиев при 37 °С	-	3,08 ±0,16***

ГХЦС подвижность спермиев была наименьшей, что на 3,16 % меньше ($p<0,01$) разбавителя BTS и на 3,33 % меньше ($p<0,01$) от "Екосперм". Наилучшая подвижность спермиев после размораживания наблюдалась при применении разрабатываемого нами разбавителя, что на 9,0 % больше ($p<0,001$) от разбавителя ГХЦС, на 5,84 % больше ($p<0,01$) BTS и на 5,67 % больше ($p<0,01$) Екосперм.

Сокращение времени охлаждения спермы хряка перед замораживанием отрицательно сказывается на сохранности плазматических мембран спермиев. Наилучшая сохранность мембран спермиев хряка наблюдалась нами при применении разрабатываемого нами разбавителя, что на 11,08 % больше ($p<0,001$) от разбавителя Екосперм, на 10,41 % больше ($p<0,001$) от BTS и на 14,58 % больше ($p<0,001$) от общепринятого разбавителя ГХЦС.

Переживаемость спермиев хряка также зависела от применяемого разбавителя. Наилучшая переживаемость спермиев хряка при 37 °С наблюдалась при применении разрабатываемого нами разбавителя, что на 0,91 час больше ($p<0,001$) Екосперм, на 0,95 часа больше ($p<0,001$) BTS и на 1,29 часа больше ($p<0,001$) общепринятого разбавителя ГХЦС. Разбавители Екосперм и BTS смогли обеспечить незначительное повышение переживаемости спермиев хряка при 37 °С после размораживания в сравнении с ГХЦС, лишь на 0,34 и 0,38 часа ($p<0,05$) соответственно.

Заключение.

Таким образом, перспективным направлением исследований в физиологии и биотехнологии воспроизводства свиней является сокращение времени охлаждения спермы хряка перед замораживанием. Решение данной проблемы возможно с помощью разработки новых разбавителей с высокими мембраностабилизирующими свойствами. Исследование на разделенных эякулятах показало, что общепринятый разбавитель ГХЦС обеспечивает наименьшую подвижность спермиев при сокращении времени эквilibрации, что на 3,16 % меньше ($p<0,01$) разбавителя BTS и на 3,33 % меньше ($p<0,01$) от "Екосперм". Наилучшая подвижность спермиев после размораживания при сокращении времени охлаждения наблюдалась при применении разрабатываемого нами разбавителя, что на 9,0 % больше ($p<0,001$) от разбавителя ГХЦС, на 5,84 % больше ($p<0,01$) BTS и на 5,67 % больше ($p<0,01$) Екосперм. Наилучшая сохранность мембран спермиев хряка наблюдалась нами при применении разрабатываемого нами разбавителя, что на 11,08 % больше ($p<0,001$) от разбавителя Екосперм, на 10,41 % больше ($p<0,001$) от BTS и на 14,58 % больше ($p<0,001$) от общепринятого разбавителя ГХЦС.

Литература

1. Гливанская О.И. Влияние saniрующих препаратов широкого спектра действия на подвижность спермы хряков-производителей / О.И. Гливанская // Зоотехническая наука Беларуси. - 2016. - Т. 51. - № 1. - С. 43-47.
2. Джамалдинов А.Ч. Способы повышения криоустойчивости спермы хряков-производителей / А.Ч. Джамалдинов, А.Г. Нарижный, Н.И. Крейндлина, А.Н. Курипко // Достижения науки и техники АПК. - 2012. - № 8. - С. 69-70.
3. Нарижный А.Г. Использование свежезвзтой и криоконсервированной спермы хряков / А.Г. Нарижный, А.Т. Мысик, Ю.В. Засуха, С.Н. Грищенко, А.Ч. Джамалдинов // Зоотехния. - 2018. - № 10. - С. 24-27.
4. Оганесян А.С. Некоторые вопросы карантинирования хряков-доноров спермы / А.С. Оганесян, А.К. Караулов, К.Н. Груздев, С.Л. Дудников // Ветеринария сегодня. - 2014. - № 1. - С. 41-44.
5. Сушко А.Б. Оплодотворяющая способность охлажденной и замороженно-оттаянной спермы жеребцов с учетом полноценности полового цикла кобыл / А.Б. Сушко, А.В. Ткачев // Зоотехническая наука Беларуси. - 2015. - Том 50. - № 1. - С. 162-167.
6. Сушко А.Б. Сравнительная эффективность замораживания спермы жеребца в разных упаковках / А.Б. Сушко, А.Г. Мищенко, А.В. Ткачев // Научно-технический бюллетень ИЖ НААН. - 2010. - № 103. - С. 152-161.
7. Ткачев А.В. Стратегия развития биотехнологии воспроизводства лошадей в Украине / А.В. Ткачев, О.Л. Ткачева, Н.А. Головачева // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. - 2018. - № 3 (9). - С. 21-32.
8. Ткачев А.В. Ассоциированность эритроцитарных антигенов с характеристиками спермы жеребцов после криоконсервирования / А.В. Ткачев, О.Л. Ткачева, В.И. Россоха // Сельскохозяйственная биология. - 2018. - Т. 53. - № 4. - С. 735-742.
9. Федорчук Е.Г. Устойчивость спермы хряков к глубокому охлаждению в зависимости от скормливания им суспензии хлореллы / Е.Г. Федорчук // Зоотехния. - 2016. - № 11. - С. 26-28.
10. Фомичева Ю.П. Повышение репродуктивных свойств спермы хряков при использовании в питании органического йода / Ю.П. Фомичева, Л.А. Никанова // Российская сельскохозяйственная наука. - 2017. - № 4. - С. 54-57.