

ВЗЯТИЕ, КАЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ НАТИВНОГО СЕМЕНИ МАРАЛОВ

COLLECTION, EVALUATION AND CRYOPRESERVATION OF NATIVE MARAL SEMEN

Ключевые слова: маралы, искусственное осеменение, нативное семя, эякулят, сперматозоиды, подвижность, активность, концентрация, жидкий азот, криоконсервация.

Искусственное осеменение – один из путей повышения продуктивности животных. Отсутствие в отрасли пантового оленеводства России банка качественной спермопродукции не дает возможности проводить искусственное осеменение маралов и тем самым приводит к нерациональному и малоэффективному ведению отрасли. Для осуществления искусственного осеменения на первом этапе нам необходимо от высокопродуктивных маралов-рогачей получить нативную сперму, провести ее оценку, разбавление и криоконсервацию для создания банка семени. В свою очередь искусственное осеменение позволит расширить селекционно-племенную работу в мараловодстве и получить новые породы, типы и группы животных, имеющие высокую продуктивность и генетический потенциал. Получение нативного семени будем осуществлять с помощью электроэякулятора Волоскова, при этом нам необходимо выявить оптимальный режим работы аппарата, с помощью которого происходит эякуляция у марала. Для получения нативного семени от маралов-рогачей с помощью электроэякулятора Волоскова оптимальным режимом является 8-8,5 В напряжение тока с временем воздействия 5-10 с и временем отдыха между импульсами 4-8 с. В результате исследования установлено, что в период гона у маралов-рогачей нативное семя имеет концентрацию спермиев в первом эякуляте от 1,0 до 1,5 млрд/мл, объем от 3,0 до 6,0 мл; во втором эякуляте – 0,7-1,0 млрд/мл и 3,0-3,5 мл соответственно. После криоконсервации нативного семени в

течение 24 ч подвижность спермиев сохранялась до 3 баллов из 10, выживаемость – до 4 ч.

Keywords: maral (*Cervus elaphus sibiricus*), artificial insemination, native semen, ejaculate, sperm, sperm motility, activity, concentration, liquid nitrogen, cryopreservation.

Artificial insemination is one of the ways to increase the productivity of animals. The absence of a high-quality sperm bank in the velvet antler deer industry in Russia makes it impossible to perform artificial insemination of marals and thus leads to irrational and ineffective management of the industry. To implement artificial insemination, at the first stage, we should collect native semen from highly productive maral stags, to make its evaluation, dilution and cryopreservation for the creation of sperm banks. In turn, artificial insemination will enable to expand breeding work in maral industry and obtain new breeds, types and groups of animals with high productivity and genetic potential. Native semen will be collected by using an electrical semen collection device by Voloskov; for marals, the optimal operation mode of the device should be identified. The optimal operational parameters are optimal to collect native semen from maral stags by electrical semen collection device by Voloskov: the voltage of 8-8.5 V, exposure time of 5-10 s with 4-8 s intervals. It has been found that at maral stag breeding time, the native sperm count in the first ejaculate is in the range from 1.0 to 1.5 billion mL, the volume – from 3.0 to 6.0 mL; in the second ejaculate: 0.7-1.0 billion mL and 3.0-3.5 mL, respectively. After cryopreservation of native seed for 24 hours sperm motility remained up to 3 points out of 10, and survival time – up to 4 hours.

Боранбаев Андрей Вячеславович, к.в.н., с.н.с., отдел «Всероссийский НИИ пантового оленеводства», Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий, г. Барнаул. Тел.: (3852) 50-13-40. E-mail: wniipo@rambler.ru.

Boranbayev Andrey Vyacheslavovich, Cand. Vet. Sci., Senior Staff Scientist, Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnologies, Barnaul. Ph.: (3852) 50-13-40. E-mail: wniipo@rambler.ru.

Введение

Россия является колыбелью искусственного осеменения во всех областях животноводства и птицеводства. В пантовом же оленеводстве до настоящего время не применяют технологии искусственного осеменения в связи со сложностью

проведения его в данной отрасли. Из-за повышенного интереса к продукции пантового оленеводства и высокой цены на сырье производителям необходимо повышать продуктивность животных. Одним из способов является искусственное осеменение маралов. В свою очередь искус-

ственное осеменение позволит расширить селекционно-племенную работу в отрасли мараловодства и получить новые породы, типы и группы животных, имеющих высокий генетический потенциал.

По данным литературы, получение нативного семени от животных методом электроэякуляции проводили Д.И. Маликов (1958), P.J. Dziuk, E.F. Graham, J.J. Peterson (1954), W.G.R. Marden (1954), J.V. Scott, P.J. Dziuk (1959), М.Е. Мкртчян (1987), В.И. Деряженцев (1973), Iaczewcki Zbigniew (1974), R.C. Iones (1975), P.F. Watson (1976), М.Н. Санкевич (1979), К.А. Лайшев, В.А. Забродин, Т.М. Романенко (2012) [1-5]. Применение указанных параметров электроэякуляции и криоконсервации, по данным литературы, на практике не дало результатов в получении и сохранении семени. Необходимы углубленное изучение и корректировка параметров в методиках получения и консервации семени с учетом применения их на маралах-рогачах (*Cervus elaphus sibiricus*).

Основная часть

Материалы и методы исследования

Работа проводилась во Всероссийском научно-исследовательском институте пантового оленеводства и в мараловодческих хозяйствах ФГУП «Новоталицкое» Чарышского района и ООО «Поле» Алтайского района в 2014-2017 гг.

Нативное семя получали уретральным методом посредством электроэякуляции с помощью электроэякулятора Волоскова (рис.).

Электроэякуляцию проводили на пяти рогачах (инвентарный номер 1-го рогача – 101, возраст 5 лет, 2-го – 086, возраст 5 лет, 3-го – 008, возраст 5 лет, 4-го – 107, возраст 8 лет, 5-го – б/н, возраст 6 лет), после фиксации животного и проведения ему туалета препуция. Смоченный водой электрод вводили в прямую кишку маралу на глубину 22-24 см. Напряжение тока определяли экспериментальным путем, начиная с 5 до 10 В. В первом случае время подачи тока составляло 5-7 с с периодичностью 4-5 раз и временем между периодами 4-5 с, сила тока 5-5,5 В, во втором случае периодичность подачи тока оставалась

той же, только силу тока увеличили на 1 В (6-6,5 В), в третьем случае силу тока увеличили на 1 В (7-7,5 В), в четвертом – 8-8,5 В. В свою очередь варьировали временем подачи тока до 10 с и временем отдыха между периодами до 8 с.



Рис. Электроэякулятор Волоскова

Полученное семя от маралов-рогачей подвергали оценке: объем – в мерных, стерильных, нагретых до 33°C, колбах; концентрация – в счетной камере Горяева согласно инструкции; подвижность – под микроскопом Микромед С-11; цвет – визуально.

Разбавленное семя помещали в холодильник с температурой 4°C на 4 ч – для эквilibрации.

Криоконсервацию семени проводили на охлажденной в жидком азоте фторопластовой пластине. Семя разливали градуированной пипеткой в лунки фторопластовой пластины, охлажденной в жидком азоте, по 0,2 мл. Пластины со спермой выдерживали над поверхностью жидкого азота на расстоянии 5 см в течение 1,5-2 мин., а затем погружали ее в жидкий азот на 1-2 мин. [6]. После замораживания спермы пластину вынимали из жидкого азота, гранулы спермы собирали в контейнер и помещали в сосуд Дьюара.

Через 24 ч после замораживания проводили биологические исследования спермы: подвижность и выживаемость. Подвижность спермиев определяли под микроскопом – оттаивая семя в цитрате Na 2,9% при температуре 38°C. Выживаемость спермиев определяли по экспресс-методу – из замороженного эякулята 2 дозы спермы ста-

вили на инкубацию в автоматический оттаиватель семени при температуре 38°C [7], подвижность спермиев – под микроскопом через каждый час в течение 5 ч.

Результаты исследований

Апробация электроэякулятора Волоскова при взятии семени от маралов-рогачей представлена в таблице 1.

В эксперименте 1 при напряжении тока 5-5,5 В и временем воздействия до 10 с у марала не наблюдали эрекции и выделения эякулята. С повышением напряжения тока до 6,5 В и времени воздействия 8-10 с получили эякулят, но эрекция не наблюдалась. В 3-м эксперименте с напряжением тока 7-7,5 В эякулят выделялся при 5-7- и 8-10-секундном воздействии, эрекция отсутствовала. С повышением напряжения тока до 8,5 В при 5-7- и 8-10-секундном воздействии получали эякулят, эрекция же наблюдалась только при 8-10-секундной подаче тока и временем отдыха между импульсами 6-8 с.

Исследования нативного семени от маралов-рогачей представлены в таблице 2.

В первой пробе наблюдали отсутствие подвижности спермиев. У 3 последующих рогачей

отмечали концентрацию в первом эякуляте от 1,0 до 1,5 млрд/мл, во втором – от 0,7 до 1,0 млрд/мл, объем эякулята – от 3,5 до 6,0 мл и от 3,0 до 3,5 мл соответственно, подвижность колебалась в пределах 3-4 балла. Желтый цвет семени зависит от содержания в эякуляте секрета куперовых желез. В первых четырех пробах забор семени осуществляли осенью – в период гона. У рогача пробы 5 забор семени производили в летний период – во время срезки пантов. Низкая концентрация сперматозоидов и отсутствие подвижности зависят от снижения сперматогенеза у маралов в летний период.

После оценки семя разбавляли желточным разбавителем и подвергали криоконсервации в жидком азоте. Через 24 ч после заморозки производили оценку семени (табл. 3).

В пробах 1 и 2 после оттаивания спермии имели подвижность 3 балла, в 1-й пробе в опыте на выживаемость активность через 3 ч снизилась до 2 баллов, через 4 ч подвижность отсутствовала. Во 2-й пробе подвижность спермиев 2 балла наблюдали в течение 4 ч. В 3-й пробе после дефростации подвижность составляла 2 балла и сохранялась в течение 2 ч.

Таблица 1

Оптимизация режимов работы электроэякулятора Волоскова при взятии нативного семени от маралов-рогачей

№ эксперимента	Время подачи тока, с	Время отдыха, с	Напряжение тока, В	Количество периодов, раз	Выделение эякулята, +/-	Эрекция, +/-
1-й	5-7; 8-10	4-5; 6-8	5-5,5	4-5	-/-	-/-
2-й	5-7; 8-10	4-5; 6-8	6-6,5	4-5	-/+	-/-
3-й	5-7; 8-10	4-5; 6-8	7-7,5	4-5	+/+	-/-
4-й	5-7; 8-10	4-5; 6-8	8-8,5	4-5	+/+	-/+

Таблица 2

Результаты исследования нативного семени от маралов-рогачей

№ пробы	Инвентарный номер рогача/возраст	Концентрация спермиев млрд/мл 1-2-го эякулята	Объем эякулята 1-2-го	Подвижность баллы 1-2-го эякулята	Цвет 1-2-го эякулята
1-я	101/5	1,5	3,0	-	Желтый
2-я	086/5	1,0/0,7	3,5/3,0	3/3	Желтый
3-я	008/5	1,1/0,8	6,0/3,5	4/4	Желтый
4-я	107/8	1,5/1,0	5,0/3,0	4/3	Белый/желтый
5-я	б/н /6	0,4/0,2/0,1	4,0/3/1,5	-	Желтый

Результаты исследования семени через 24 ч после криоконсервации

№ пробы	Бирка рогача/возраст	Подвижность, баллы	Выживаемость спермиев, ч/балл				
			1 ч	2 ч	3 ч	4 ч	5 ч
1-я	008/5	3	+/3	+/2	+/2	-	-
2-я	107/8	3	+/3	+/3	+/3	+/2	-
3-я	086/5	2	+/2	+/2	-	-	-

Заключение

Для получения нативного семени от маралов-рогачей с помощью электроэякулятора Волоскова оптимальным режимом является: 8-8,5 В напряжение тока с временем воздействия 5-10 с и временем отдыха между импульсами 4-8 с. В период гона у маралов-рогачей нативное семя имеет концентрацию спермиев в первом эякуляте от 1,0 до 1,5 млрд/мл, объем от 3,0 до 6,0 мл; во втором эякуляте – 0,7-1,0 млрд/мл и 3,0-3,5 мл соответственно.

После криоконсервации нативного семени подвижность спермиев сохранялась до 3 баллов, выживаемость – до 4 ч.

Библиографический список

1. Marden, W.G.R. (1954) New advances in the electroejaculation of the bull. J. Dairy Sci. 37, 556-561.

2. Scott, J.V., Dziuk, P.J. (1959) Evaluation of the electroejaculation technique and the spermatozoa thus obtained from rats, mice and guinea pigs. Anat. Record. 133: 655-664.

3. Мкртчян М.Е. Получение и оценка качества семени самцов северных оленей // От эксперимента к широкому внедрению. – Мурманск, 1987. – С. 67-71.

4. Санкевич М.Н. Методы получения спермы от маралов в период гона и ее качественные показатели // Новое в технологии пантового оленеводства. – Барнаул, 1979. – С. 23-27.

5. Лайшев К.А., Забродин В.А., Романенко Т.М. Усовершенствованные методы племенной работы в оленеводстве // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных. – Воронеж: Всерос. науч.-исслед. ветеринар. ин-т патологии, фармакологии и терапии, 2012. – С. 21-28.

6. Национальная технология замораживания и использования спермы племенных быков производителей. – М., 2008. – 159 с.

7. Инструкция по организации и технологии работы станций и предприятий по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных. – М., 1981. – 159 с.

References

1. Marden, W.G.R. (1954) New advances in the electroejaculation of the bull. J. Dairy Sci. 37, 556-561.

2. Scott, J.V., Dziuk, P.J. (1959) Evaluation of the electroejaculation technique and the spermatozoa thus obtained from rats, mice and guinea pigs. Anat. Record. 133: 655-664.

3. Mkrtychyan M.E. Poluchenie i otsenka kachestva semeni samtsov severnykh oleney // Ot eksperimenta k shirokomu vnedreniyu. – Murmansk, 1987. – S. 67-71.

4. Sankevich M.N. Metody polucheniya spermy ot maralov v period gona i ee kachestvennye pokazateli // Novoe v tekhnologii pantovogo olenevodstva. – Barnaul, 1979. – S. 23-27.

5. Layshev K.A., Zabrodin V.A., Romanenko T.M. Usovershenstvovannyye metody plemennoy raboty v olenevodstve // Sovremennyye problemy veterinarnogo akusherstva i biotekhnologii vosproizvedeniya zhivotnykh. – Voronezh: Vseros. nauchn.-issled. veterinar. in-t patologii, farmakologii i terapii, 2012. – S. 21-28.

6. Natsionalnaya tekhnologiya zamorazhivaniya i ispolzovaniya spermy plemennykh bykov proizvoditeley. – M., 2008. – 159 s.

7. Instruksiya po organizatsii i tekhnologii raboty stantsiy i predpriyatiy po iskusstvennomu osemeneniyu selskokhozyaystvennykh zhivotnykh. – M., 1981. – 159 s.

