

# ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

УДК 619:618.612

А.В. Боранбаев  
A.V. Boranbayev

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ САНИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В РАЗБАВИТЕЛЯХ СПЕРМЫ МАРАЛА ПРИ ЕЕ ОТБОРЕ В ПАНТОРЕЗНОМ СТАНКЕ ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ

### THE EFFECTIVENESS OF SANITIZERS USED IN MARAL SEMEN DILUENTS WHEN COLLECTING SEMEN AT ANTLER CUTTING PEN AFTER CRYOPRESERVATION

**Ключевые слова:** маралы, искусственное осеменение, сперматозоиды, жидкий азот, криоконсервация, бактериологическая загрязненность, бактериологическое исследование, микологическое исследование, препуций, санирующий препарат, банк семени.

Искусственное осеменение – один из путей повышения продуктивности животных. Отсутствие в пантовом оленеводстве России банка качественной спермопродукции не дает возможности проводить искусственное осеменение маралов и тем самым приводит к нерациональному и малоэффективному ведению отрасли. Искусственное осеменение позволит отрасли мараловодства оставаться конкурентоспособной на мировой арене, а именно: расширить селекционно-племенную работу в мараловодстве и получить новые породы, типы и группы животных, имеющие высокую продуктивность и генетический потенциал. Для решения данной проблемы необходимо получить и сохранить высококачественную спермопродукцию от маралов-рогачей. Для осуществления искусственного осеменения на первом этапе необходимо от высокопродуктивных маралов-рогачей получить качественную и чистую в бактериологическом отношении сперму, провести ее оценку, разбавление и криоконсервацию для создания банка семени. Сперму получали уретральным методом с помощью электроэякулятора Волоскова. Разбавление семени осуществляли с использованием лактозо-глицерино-желточной среды. Исследуемые пробы спермы были чисты по отношению к кампилобактериозу, трихомонозу, синегнойной палочке, анаэробной микрофлоре, БГКП. В ходе исследований установлено,

что в разбавленной сперме маралов после криоконсервации наблюдается общая бактериологическая загрязненность от  $10^3$  до  $10^5$  и рост непатогенных грибов из рода *Penicillium* sp. от 2 до 4 колоний. Использование полученной спермы для проведения искусственного осеменения недопустимо, для снижения бактериологической обсемененности апробированы санирующие препараты «Полиген», «Андромед», «Неомицина сульфат» в концентрации 300 мг, добавленные в лактозо-глицерино-желточные среды, позволяют получать безопасную, стерильную и пригодную для искусственного осеменения сперму марала.

**Keywords:** maral (*Cervus elaphus sibiricus*), artificial insemination, sperm, liquid nitrogen, cryopreservation, bacterial content, bacteriological study, mycologic study, prepuce, sanitizers, semen bank.

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. Artificial insemination will increase the competitiveness of the industry in the world arena through expanding the breeding work in the maral industry and obtaining new breeds, types and groups of animals with high productivity and genetic potential. To solve this problem, we should collect and preserve high-quality semen from maral stags. To implement artificial insemination, at the first stage, we should collect quality and bacteria-free semen from highly productive maral stags, then to make its evaluation, dilution and cryopreservation for the creation of

semen banks. The semen was collected by using an electrical semen collection device by Voloskov. The urethral method of semen collection was applied. The semen was diluted with lactose-glycerine-egg-yolk medium. The tested semen samples were bacteria-free regarding campylobacteriosis, trichomoniasis, *Pseudomonas aeruginosa*, anaerobic bacteria, and *Escherichia coli* group bacteria. It was found that the bacterial content of the diluted cryopreserved semen was equal to  $10^3$  up to  $10^5$  the growth of

nonpathogenic *Penicillium* fungus was observed - from two up to four colonies. The use of the tested semen for artificial insemination was impossible. To reduce the bacterial content in the tested semen, the sanitizers Poligen, Andromed, Neomycin sulfate in the concentration of 300 mg were added to lactose-glycerine-egg-yolk medium to get safe, bacteria-free maral semen suitable for artificial insemination.

**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

Известно, что искусственное осеменение в России, у сельскохозяйственных животных применяется с 1899 г., в мараловодстве же более века используется естественное осеменение. Улучшение генетических и продуктивных качеств маралов в мараловодческих хозяйствах до настоящего времени осуществляется организацией гона (отбор для спаривания высокопродуктивных животных), а в большинстве хозяйств из-за отсутствия между летними парками изгородей гон не организован. Все это ведет к малоэффективному ведению отрасли мараловодства в России. Искусственное осеменение является одним из способов оставаться конкурентоспособной отраслью на мировой арене промышленного оленеводства, а также позволит улучшать генетический потенциал и продуктивность отечественной популяции маралов.

Для осуществления искусственного осеменения маралов необходимо получить доброкачественную сперму по макро-, микроскопическим показателям, а также свободную от микрофлоры. Взятие семени от маралов-рогачей на маралофермах происходит в производственных условиях и не всегда получается добиться стерильности панторезного станка (место фиксации рогачей и маралух). В свою очередь, семя, применяемое для искусственного осеменения маралух, должно быть максимально стерильное [1]. По этой причине необходимы эффективные и безопасные для сперматозоидов saniрующие препараты. Сперма здоровых животных, полученная с соблюдением санитарно-гигиенических требований, не должна содержать микроорганизмов [2]. Одной из причин микробной контаминации спермы является несоблюдение санитарных норм и правил при отборе. Основными источниками загрязнения спермы явля-

ются воздух случного манежа, волосяной покров животного, препуциальная полость и т.д. [3-5]. Контаминация возможна через лабораторную посуду и инструменты, при разбавлении, эквilibрации и фасовке спермы [6].

По требованиям к сперме быков крупного рогатого скота сперму разделяют по количеству микробов на: незначительно загрязненную при содержании в 1 мл спермы до 0,1 тыс. микробов; слабозагрязненную – до 2 тыс. микробов в 1 мл; среднезагрязненную – до 5 тыс. микробов в 1 мл; сильнозагрязненную – более 5 тыс. микробов в 1 мл. Для искусственного осеменения допускают сперму с содержанием микробов не более 5 тыс. в 1 мл.

**Цель** исследования – определить эффективность saniрующих препаратов на микробиологическую загрязненность спермы маралов, отобранной в панторезном станке после криоконсервации.

### Материалы и методы

Взятие семени у маралов-рогачей проводили в мараловодческих хозяйствах Алтайского края в 2018-2019 гг.

Семя получали уретральным методом с помощью электроэякулятора Волоскова. Электроэякуляцию проводили на 7 рогачах после их фиксации и проведения туалета препуция теплой водой (рис. 1).

Смоченный водой электрод вводили в прямую кишку маралу на глубину 22-24 см. Затем подавали ток 3-4 раза по 5 с с перерывом 10 с при напряжении 6-8 В и сопротивление в цепи

1000 Ом [7]. Выделяющуюся сперму собирали в стерильные полиэтиленовые одноразовые спермоприемники, после чего проводили оценку (рис. 2) [8].



**Рис. 1. Зафиксированный марал в панторезном станке и методом повала перед электроякуляцией**

Объем определяли в мерных, стерильных, нагретых до 33°C колбах; концентрация – в счетной камере Горяева согласно инструкции; подвижность – под микроскопом Микромед С-11; цвет – визуально. После оценки семени произ-

водили ее разбавление. Разбавление семени осуществляли с использованием лактозо-глицерино-желточной среды (ЛГЖ) без добавления санирующего препарата для определения общей бактериологической и микологической обсемененности полученной спермы. Для определения эффективности санирующих препаратов, антибиотиков их добавляли в лактозо-глицерино-желточные среды (ЛГЖ) (рис. 3). Апробировали 4 антибиотика широкого спектра действия, доступных для приобретения в ветеринарных аптеках: 1) ЛГЖ (состав: вода дистиллированная 100 мл, лактоза 11,5 г, желток куриный 20 мл, глицерин 5 мл + Полиген 300 мг/1 мл – для санации спермы); 2) ЛГЖ (состав: вода дистиллированная 100 мл, лактоза 11,5 г, желток куриный 20 мл, глицерин 5 мл + Дорин 300 мг/1 мл – для санации спермы); 3) ЛГЖ (состав: вода дистиллированная 100 мл, лактоза 11,5 г, желток куриный 20 мл, глицерин 5 мл + Армаголд 300 мг/1 мл – для санации спермы); 4) ЛГЖ (состав: вода дистиллированная 100 мл, лактоза 11,5 г, желток куриный 20 мл, глицерин 5 мл + Неомицина сульфат 300 мг/1 мл – для санации спермы). Апробированные антибиотики эффективны в отношении многих грамположительных и грамотрицательных бактерий: Полиген состоит из полимиксина сульфата и гентамицина сульфата; Дорин – доксицилина гидрохлорида и рифампицина; Армаголд – колистина сульфата, сульфадимезина, триметоприма и глюкозы.



**Рис. 2. Сперма в полиэтиленовом спермоприемнике**





Рис. 3. ЛГЖ среды с добавлением антибиотиков

Разбавленное семя выдерживали при комнатной температуре 15-20 мин., затем помещали на 4-5 ч в бытовой холодильник для эквипирации при 2-4°C. Затем 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. После замораживания спермы пластину вынимали из жидкого азота, гранулы спермы собирали в контейнер и помещали в сосуд Дьюара [9].

Отбор проб спермы для бактериологического и микологического исследования проводили согласно ГОСТ 32198-2013 [10]. Посевы биоматериала на общую бактериологическую обсемененность, кампилобактериоз, синегнойную палочку, анаэробы, кишечную палочку, трихомоноз

осуществляли в лаборатории Алтайского краевого ветеринарного центра.

### Результаты исследований

Исследования нативного семени от маралов-рогачей представлены в таблице 1.

Взятие спермы проводили от маралов-рогачей в возрасте 5-8 лет. Концентрация спермиев в первом эякуляте колебалась от 0,9 до 1,2 млрд/мл во втором эякуляте 0,6-1,0 млрд/мл, объем от 4,0-6,0 мл в первом и от 2,0-3,5 мл во втором эякуляте. Подвижность оценивали по 10-балльной системе, она составила от 5-9 баллов. Органолептические показатели определяли визуально: цвет от белого до желтого со специфическим запахом. Желтый цвет семени зависит от содержания в эякуляте секрета куперовых желез.

После оценки семя разбавляли желточным разбавителем с добавлением апробируемых дезинфицирующих препаратов и подвергали криоконсервации в жидком азоте. Через 24 ч после заморозки производили оценку семени (табл. 2).

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

Таблица 1

### Результаты исследования нативного семени от маралов-рогачей в период гона

№ пробы	Возраст рогача	Концентрация спермиев млрд/мл 1-2-го эякулята	Объем 1-2-го эякулята	Подвижность баллы 1-2-го эякулята	Цвет 1-2-го эякулята
1-я	5	1,1/0,7	5,0/3,0	9/9	Белый
2-я	5	1,0/0,7	4,0/3,0	9/9	Желтый
3-я	5	1,1/0,8	6,0/3,5	6/6	Желтый
4-я	8	1,2/1,0	5,0/3,0	7/7	Белый/желтый
5-я	6	0,9/0,6	4,0/3/2,0	5/5	Желтый

Таблица 2

**Результаты исследования семени через 24 ч после криоконсервации**

№ пробы	Бирка рогача/возраст	Подвижность баллы	Выживаемость спермиев час/балл				
			1 ч	2 ч	3 ч	4 ч	5 ч
1	5	3	+/3	+/2	+/2	-	-
2	5	3	+/3	+/3	+/3	+/2	-
3	5	2	+/2	+/2	-	-	-
4	8	3	+/3	+/2	-	-	-

Таблица 3

**Результаты бактериологических исследований разбавленной спермы марала после криоконсервации**

№ п/п	Состав разбавителя	Бактериологические и микологические исследования						
		общая бакзагрязненность	кампило-бактериоз	трихо-моноз	сине-гнойная палочка	анаэробная микрофлора	грибы/ колонии	БГКП
1	ЛГЖ + сперма	10 <sup>4</sup>	-	-	-	-	+/3	-
2	ЛГЖ + сперма	10 <sup>5</sup>	-	-	-	-	+/4	-
3	ЛГЖ + сперма	10 <sup>3</sup>	-	-	-	-	+/2	-
4	ЛГЖ + сперма	10 <sup>4</sup>	-	-	-	-	+/3	-
5	ЛГЖ	-	-	-	-	-	-	-

Отобранную, разбавленную без добавления saniрующих препаратов и замороженную сперму подвергли бактериологическому и микологическому исследованию. Результаты отражены в таблице 3.

Во всех исследуемых пробах спермы наблюдается общая бактериологическая загрязненность от 10<sup>3</sup> до 10<sup>5</sup> и рост непатогенных грибов от 2 до 4 колоний. Исследования показали, что данные непатогенные грибы относятся к роду *Penicillium* sp. (рис. 4).

По всем остальным исследуемым показателям (кампилобактериоз, трихомоноз, синегнойная палочка, анаэробная микрофлора, БГКП) получен отрицательный результат. Данные бактериологических и микологических исследований свидетельствуют о загрязненности проб спермы маралов, не смотря на стерильность используемого разбавителя. Контаминация биоматериала происходит в момент его сбора из внешней среды (панторезный станок).



**Рис. 4. Рост грибов**

Для санации семени маралов апробировали 4 антибиотика, применяемые в ветеринарии. Результаты испытаний препаратов отражены в таблице 4.

Все использованные антибиотики, кроме дорина, в концентрации 300 мг пагубно воздействуют на микрофлору спермы, в то же время на подвижность спермиев влияние не оказали. После размораживания спермы с антибиотиками подвижность сперматозоидов сохранилась – 2-3 балла.

Таблица 4

Результаты бактериологических исследований разбавленной спермы марала после криоконсервации

№ п/п	Состав разбавителя	Бактериологические исследования					
		общая бактериальность	кампило- бактериоз	трихо- моноз	сине- гнойная палочка	анаэробная микрофлора	БГКП
1	ЛГЖ / ЛГЖ + Полиген 300 мг	10 <sup>4</sup> /-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
2	ЛГЖ / ЛГЖ + Дорин 300 мг	10 <sup>5</sup> /10 <sup>4</sup>	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
3	ЛГЖ / ЛГЖ + Армаголд 300 мг	10 <sup>3</sup> /-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
4	ЛГЖ / ЛГЖ + Неомицина сульфат 300 мг	10 <sup>4</sup> /-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

### Выводы

1. В разбавленной сперме маралов после криоконсервации наблюдается общая бактериологическая загрязненность от 10<sup>3</sup> до 10<sup>5</sup> и рост непатогенных грибов из рода *Penicillium* sp. от 2 до 4 колоний.

2. Использование полученной спермы для проведения искусственного осеменения недопустимо, для снижения бактериологической обсемененности необходимо добавлять санирующие препараты в разбавитель и качественно проводить туалет препуция у маралов.

3. Антибиотики «Полиген», «Андромед», «Неомицина сульфат» в концентрации 300 мг, добавленные в лактозо-глицерино-желточные среды, позволяющие получать безопасную, стерильную и пригодную для искусственного осеменения сперму марала, применяемая дозировка препаратов не воздействует на активность сперматозоидов.

### Библиографический список

1. Radke H., Corboz L., Flükiger A. 9th European A.I. Vets Meeting, 1997, Neuchatel, Switzerland.

2. Иванов, В. С. Совершенствование способа асептического взятия и обработки спермы хряков: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Иванов В. С. – Воронеж, 1982. – 24 с. – Текст: непосредственный.

3. Куклин, А. Д. Изучение контаминации микроорганизмами спермы жеребцов при замораживании: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Куклин А. Д. – Харьков, 1973. – 24 с. – Текст: непосредственный.

4. Malmgren, L., Engvall, E., Engvall, A., Albin, A. (1998). Aerobic Bacterial Flora of Semen and Stallion Reproductive Tract and its Relation to Fertility under Field Conditions. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 39: 173-182.

5. Smole, I., Thomann, A., Frey, J., Perreten, V. (2009). Repression of Common Bull Sperm Flora and In Vitro Impairment of Sperm Motility with *Pseudomonas aeruginosa* Introduced by Contaminated Lubricant. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*. 45: 737-742. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01319.x.

6. Althouse, G. (2008). Sanitary Procedures for the Production of Extended Semen. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*. 43: Suppl 2. 374-378. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01187.x.

7. Национальная технология замораживания и использования спермы племенных быков производителей. – Москва, 2008. – 159 с. – Текст: непосредственный.

8. Методические указания по ветеринарно-санитарному контролю качества замороженной спермы быков-производителей. – Москва, 2003. – 10 с. – Текст: непосредственный.

9. Инструкция по организации и технологии работы станций и предприятий по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных. – Москва, 1981. – 159 с. – Текст: непосредственный.

10. ГОСТ 32198-2013. Средства воспроизводства. Сперма. Методы микробиологического анализа. – Москва: Стандартинформ, 2014. – 30 с. – Текст: непосредственный.

### References

1. Radke H., Corboz L., Flükiger A. 9th European A.I. Vets Meeting, 1997, Neuchatel, Switzerland.

2. Ivanov V.S. Sovershenstvovanie sposoba asepticeskogo vzyatiya i obrabotki spermy khryakov: avtoref. dis. ... kand. vet. nauk / V.S. Ivanov. – Voronezh, 1982. – 24 s.

3. Kuklin A.D. Izuchenie kontaminatsii mikroorganizmami spermy zhrebtsov pri zamorazhivanii: avtoref. dis. kand. biol. nauk / A.D. Kuklin. – Kharkov, 1973. – 24 s.

4. Malmgren, L., Engvall, E., Engvall, A., Albihn, A. (1998). Aerobic Bacterial Flora of Semen and Stallion Reproductive Tract and its Relation to Fertility under Field Conditions. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 39: 173-182.

5. Smole, I., Thomann, A., Frey, J., Perreten, V. (2009). Repression of Common Bull Sperm Flora and In Vitro Impairment of Sperm Motility with *Pseudomonas aeruginosa* Introduced by Contaminated Lubricant. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*. 45: 737-742. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01319.x.

6. Althouse, G. (2008). Sanitary Procedures for the Production of Extended Semen. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*. 43: Suppl 2. 374-378. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01187.x.

7. Natsionalnaya tekhnologiya zamorazhivaniya i ispolzovaniya spermy plemennykh bykov proizvoditeley. – Moskva, 2008. – 159 s.

8. Metodicheskie ukazaniya po veterinarno-sanitamomu kontrolyu kachestva zamorozhennoy spermy bykov-proizvoditeley. – Moskva, 2003. – 10 s.

9. Instruksiya po organizatsii i tekhnologii raboty stantsiy i predpriyatiy po iskusstvennomu osemneniyu selskokhozyaystvennykh zhivotnykh. – Moskva, 1981. – 159 s.

10. GOST 32198-2013 Sredstva vosproizvodstva. Sperma. Metody mikrobiologicheskogo analiza. – Moskva: Standartinform, 2014. – 30 s.



УДК 619:618

В.С. Веретенникова, Т.В. Бойко, К.В. Варфоломеева  
V.S. Veretennikova, T.V. Boyko, K.V. Varfolomeyeva

**ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ  
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО КОМПЛЕКСА  
РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ «УРТИКОСТИМ»  
ПРИ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПОСЛЕРОДОВОГО ПЕРИОДА У КОРОВ**

**THERAPEUTIC AND PROPHYLACTIC EFFECTIVENESS OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPLEX  
BASED ON MEDICINAL PLANTS URTIKOSTIM WHEN TREATING POSTPARTUM  
GYNECOLOGICAL DISEASES IN COWS**

**Ключевые слова:** послеродовой период коров, эндометрит, субинволюция, атония, гипотония матки и преджелудков, фитотерапия, фитопрепарат.

**Keywords:** postpartum period in cows, endometritis, subinvolution, atony, uterine and cow rumen hypotonia, phytotherapy, herbal medicinal product.