

УДК 636.4.082.453.51

Д.М. БОГДАНОВИЧ, Т.Н. БРОВКО, И.Н. ШЕВЦОВ, О.И. СУББОТ

**НОВОЕ ПРИ ПОДГОТОВКЕ СПЕРМЫ В ТЕХНОЛОГИИ
ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ СВИНЕЙ**

*Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

Исследования, направленные на повышение оплодотворяющей способности спермы производителей, проводились на производителях и свиноматках породы йоркшир в возрасте 16-30 мес., содержащихся в СК «Рассошное» ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Минской области. В результате разработан метод интенсификации двигательной активности и укрепления цитоморфологической целостности спермиев путём комплексного биофизического воздействия на биоматериал хряков-производителей, позволяющий минимизировать снижение подвижности спермиев в течение хранения, повысить степень целостности мембран клеток спермиев, что способствует улучшению оплодотворяемости на 10-20 % и многоплодия до 10 %.

Ключевые слова: комплексное биофизическое воздействие, многоплодие, морфологическая целостность, оплодотворяемость, патологические формы, подвижность, сперма, хряки-производители.

D.M. BOGDANOVICH, T.N. BROVKO, I.N. SHEVTSOV, O.I. SUBBOT

**NOVELTY IN PREPARATION OF SEEM IN TECHNOLOGY OF ARTIFICIAL
INSEMINATION OF PIGS**

*Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus
for Animal Breeding, Zhodino, Belarus*

Researches aimed at increasing the fertilizing ability of semen of producing animals were conducted on boars and sows of Yorkshire breed of 16-30 months of age managed at SC "Rasoshnoye" of SE "ZhodinoAgroPlemElita" in Minsk region. As a result, a method has been developed to intensify motility and strengthen the cytomorphological integrity of spermatozoa by means of a complex biophysical effect on the biomaterial of producing boars allowing to minimize the decrease of spermatozoa motility during storage, increase the integrity of spermatozoa membranes, which promotes improvement of fertility rate by 10-20% and multiple pregnancy rate by 10 %.

Keywords: complex biophysical effects, multiple pregnancy rate, morphological integrity, fertility rate, pathological forms, motility, semen, producing boars.

Введение. В настоящее время в условиях интенсивного развития животноводства биотехнология искусственного осеменения, как прогрессивный способ размножения, приобретает всё большее значение.

Особенно большие достижения отмечены в технологии получения, разбавления и хранения спермопродукции от высококлассных производителей, что способствует увеличению сроков сохранения её биологической полноценности вне организма, своевременному и плодотворному осеменению свиноматок и ремонтных свинок, максимальной реализации воспроизводительных функций животных и, в практическом применении, повышению эффективности ведения отрасли в целом [1, 2, 3, 4].

Вместе с тем, наряду с несомненными достижениями, существует и ряд проблем, решение которых повысило бы эффективность и, соответственно, рентабельность свиноводства. В связи с этим всё больший интерес у исследователей вызывают различные методы стимуляции половой функции производителей с целью улучшения качественных и количественных показателей спермы и её оплодотворяющей способности. В их числе стимуляция препаратами стероидной природы [5], а также гормонами [6, 7], использование биостимуляторов [4, 8], биологически активных веществ [9, 10, 11], воздействие ультразвуком и лазером [12] на биологически активные точки.

Внимание исследователей привлекает биофизическое воздействие на биологические объекты как наиболее простой, малозатратный и, главное, экологически чистый способ активизации процессов жизнедеятельности в клетках, тканях и органах. По сравнению с медикаментозными оно, как правило, оказывается не только более безопасным, но и более естественным. Это, прежде всего, связано с вероятностью отрицательных последствий для человека от побочных эффектов применения антибиотиков, гормональных средств и других веществ химической природы [4, 8].

Гипотеза биофизического воздействия основана на возможности улучшения кровоснабжения органов на клеточном и молекулярном уровнях. Существует мнение, что для КВЧ-диапазона наиболее выраженные биологические эффекты объясняются резонансной структурой поглощения излучения клетками организма, а низкочастотные стационарные электромагнитные поля, проникая на достаточную глубину, обуславливают также специфический терапевтический эффект.

Таким образом, принимая во внимание актуальность вышеизложенной проблемы, научно обоснованными и перспективными являются исследования, направленные на повышение оплодотворяющей способности спермы производителей с использованием новых методов комплексного биофизического воздействия, которые позволяют в полном объёме реализовывать генетический потенциал, заложенный в половых гаметах.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в СК «Рассошное» ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Минской области и

лаборатории воспроизводства, трансплантации эмбрионов и трансгена животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». Использовались производители и свиноматки породы йоркшир в возрасте 16-30 мес. Получение, оценка и разбавление эякулятов осуществлялась согласно инструкции [13]. В качестве разбавителя применялась стандартная ГХЦС-среда. Оценка спермы осуществлялась на компьютерном спермоанализаторе «Spermvision» (Minitube) по следующим показателям: подвижность, балл; проксимальные цитоплазматические капли, %; дистальные цитоплазматические капли, %; аномалия хвоста, %. Обработка биоматериала проводилась прибором БГУИР, позволяющим за счёт наличия излучателей магнитных, лазерных и волн КВЧ осуществлять комплексное биофизическое воздействие с определёнными частотами: волны КВЧ (удельная мощность потока 0,5-1 мВт/см², 53 ГГц – 1 линия поглощения кислорода, 150 ГГц – 1 линия поглощения монооксида азота), магнитные волны (8 и 24 мТс) и ИК-лазер (импульсный режим с тактовой частотой 10 кГц). Оценка физико-химических показателей (осмотического давления) проводилась с применением осмометра Fiske-210 (США).

С целью изучения изменений качественных показателей спермопродукции производителей при биофизическом воздействии было сформировано 6 групп по 40 спермодоз в каждой: контрольная и 5 опытных. Эякуляты контрольной группы обработке не подвергались, эякуляты I опытной группы подвергались воздействию комплекса крайне высокочастотного излучения совместно с магнитным полем и лазерным излучением однократно с длительностью воздействия 45 секунд, II опытной группы – однократно с длительностью воздействия 60 секунд, III опытной группы – однократно с длительностью воздействия 90 секунд, IV опытной группы – двукратно с интервалом 5 мин. с длительностью воздействия 60 секунд и V опытной группы – двукратно с интервалом 5 мин. с длительностью воздействия 90 секунд. Оценка качества спермы проводилась через 1; 24; 48 и 72 часа после обработки по показателям подвижности и цитоморфологической целостности спермиев.

Для изучения оплодотворяющей способности спермы в зависимости от биофизической обработки и времени хранения было сформировано 6 групп свиноматок по 20 голов в каждой, которых осеменили спермой хряков, обработанной согласно вышеизложенным схемам. Изучались следующие показатели: оплодотворяемость после первого осеменения, %; количество поросят на опорос, всего, гол.; количество поросят на опорос, живых, гол. Выявление в охоте, осеменение свиноматок осуществлялось в соответствии с «Инструкцией по искусственному осеменению свиней» [13].

Результаты эксперимента и их обсуждение. Результаты изучения подвижности половых гамет хряков-производителей отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Динамика двигательной активности половых гамет хряков-производителей при комплексном биофизическом воздействии

Группа	Количество эякулятов	Подвижность при хранении, балл			
		1 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.
Контроль	40	6,6±0,23	5,9±0,30	4,6±0,30	2,7±0,29
I опытная	40	6,0±0,24	5,2±0,32	5,0±0,39	2,6±0,28
II опытная	40	5,8±0,28*	5,5±0,24	4,7±0,26	3,3±0,27
III опытная	40	5,9±0,13*	5,3±0,16	5,0±0,31	2,9±0,26
IV опытная	40	6,3±0,10	6,0±0,21	5,4±0,21*	3,3±0,25
V опытная	40	6,8±0,11	6,6±0,18	5,5±0,28*	3,4±0,24

Примечание: здесь и далее * - P<0,05, 0,02; ** - P<0,01; *** - P<0,001.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что биофизическая стимуляция спермы хряков оказывает благоприятное воздействие на двигательную активность половых клеток. Так, спустя 24 часов хранения подвижность находилась на уровне 5,2-5,5 баллов в I, II и III опытных группах, 6,0 и 6,6 балла – в IV и V соответственно. В контроле отмечено 5,9 балла. После 48 часов хранения минимальное значение указанного показателя выявлено в контрольной группе – 4,6 балла, максимальное – в V опытной группе (5,5 балла). При 72 часах хранения минимальное значение двигательной активности спермиев также отмечено в контрольной группе – 2,7 балла, максимальное – в V опытной группе (3,4 балла). Анализируя динамику изучаемого показателя за 72 часа хранения, можно отметить снижение значения в контроле на 60 %, а в опытных группах – на 57 %, 56, 49, 48 и 50 % соответственно.

Можно сделать вывод, что комплексное биофизическое воздействие на биоматериал хряков-производителей позволяет минимизировать снижение подвижности спермиев в течение хранения в III, IV и V опытных группах на 50 % в сравнении с контролем (на 60 %).

В ходе анализа опытных данных таблицы 2 отмечено проявление всех форм морфологических изменений спермиев при комплексном биофизическом воздействии на биоматериал хряков-производителей после 72 часов хранения.

Проксимальные цитоплазматические капли представляют собой односторонние гладкие выпуклости на шейке спермия. Половые гаметы с большим числом указанных нарушений не обладают немедленной способностью к оплодотворению яйцеклетки. В исследованных пробах на всех этапах оценки не обнаружено спермиев с указанной патологией.

Таблица 2 – Целостность морфологии спермиев хряков-производителей в течение 72 часов хранения после комплексного биофизического воздействия

Группа	Проксимальные капли, %				Дистальные капли, %				Аномалия хвостика, %			
	1 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.	1 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.	1 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.
Контроль (n=40)	100	100	100	100	88,1 ± 1,6	70,8 ± 3,6	64,2 ± 1,9	62,0 ± 3,2	99,8 ± 0,1	99,8 ± 0,1	99,8 ± 0,1	99,8 ± 0,1
I опытная (n=40)	100	100	100	100	94,2 ± 0,6 ***	81,6 ± 1,8 **	71,4 ± 3,2	68,7 ± 2,5	99,8 ± 0,1	99,8 ± 0,1	99,7 ± 0,1	99,7 ± 0,07
II опытная (n=40)	100	100	100	100	82,0 ± 1,6 **	67,6 ± 3,1	67,4 ± 2,8	74,1 ± 2,5 **	99,9 ± 0,05	99,8 ± 0,06	99,4 ± 0,15	99,8 ± 0,06
III опытная (n=40)	100	100	100	100	72,3 ± 2,2 ***	61,2 ± 3,2*	59,5 ± 3,1	72,6 ± 2,1 **	99,9 ± 0,05	99,9 ± 0,05	99,9 ± 0,05	99,9 ± 0,05
IV опытная (n=40)	100	100	100	100	71,9 ± 2,2 ***	63,5 ± 3,5	64,4 ± 3,1	76,9 ± 1,8 ***	100	100	100	99,8 ± 0,1
V опытная (n=40)	100	100	100	100	73,2 ± 2,7 ***	65,1 ± 2,9	67,7 ± 2,9	78,4 ± 1,6 ***	100	100	100	99,9 ± 0,05

Дистальные цитоплазматические капли находятся в дистальном конце средней части шейки половых клеток производителя, наличие такой аномалии также отрицательно сказывается на оплодотворяющей способности. При проведении наших исследований отмечено высокая концентрация спермиев с указанной формой повреждений. Вероятно, это связано с нарушениями технологии кормления, содержания и получения эякулятов либо с физиологическими особенностями используемых производителей.

Проведя анализ полученных результатов, стоит отметить, что схема воздействия, применяемая в I и II опытных группах, не оказала влияния на целостность мембран гамет (снижение сохранности на 28 и 10 % соответственно), в эякулятах III опытной группы позволила замедлить процесс деструкции, а в IV и V опытной группах позволила на 6,9 и 7,1 % соответственно повысить степень целостности мембран клеток спермиев.

Ненормально сформированный хвостик не допускает прогрессирующего движения половых гамет и может затруднить их проникновение в маточную трубу, не говоря уже о возможности пенетрации яйцеклетки. При оценке спермопроб установлено минимальное количество

клеток с указанной патологией.

Таким образом, комплексное биофизическое воздействие на биоматериал хряков-производителей способствует сохранению высокой биологической полноценности половых клеток в течение длительного хранения разбавленных эякулятов. Кроме того, разработанная схема стимуляции оказывает положительное влияние на целостность клеток.

На состояние мембран гамет оказывает воздействие и осмотическое давление. В наших исследованиях была изучена связь между биофизическим воздействием и осмосом в половых клетках (таблица 3).

Таблица 3 – Взаимосвязь осмотического давления и комплексного биофизического воздействия

Группа	Количество эякулятов	Осмос, мОсм/л		
		время хранения, час		
		24	48	72
Контроль	40	299,4±0,96	316,2±1,45	344,5±3,76
I опытная	40	299,8±1,19	315,0±1,03	335,8±2,2
II опытная	40	299,4±0,85	312,4±1,31	335,3±2,50*
III опытная	40	299,0±0,89	317,3±2,72	347,9±5,69
IV опытная	40	298,7±0,77	314,6±1,41	340,1±3,80
V опытная	40	301,3±1,26	309,7±0,90***	330,6±2,90**

Анализируя данные таблицы 3, можно отметить увеличение осмотического давления в течение 72 часов хранения во всех группах. В то же время, минимальная дельта значений выявлена в эякулятах V опытной группы, что может свидетельствовать о положительном воздействии на гомеостаз среды в спермиях.

Результаты влияния биофизической обработки на оплодотворяемость и многоплодие свиноматок, осеменённых опытной спермой, отражены в таблице 4.

Таблица 4 – Оплодотворяющая способность половых гамет при комплексном биофизическом воздействии на сперму хряков-производителей

Группа	Свиноматки, гол.		Оплодотворяемость, %	Многоплодие, гол.	
	покрыто	опоросилось		всего	живых
Контроль	20	14	70	11,1±0,27	10,6±0,20
I опытная	20	14	70	11,3±0,24	10,8±0,21
II опытная	20	15	75	11,6±0,29	11,2±0,17*
III опытная	20	16	80	11,2±0,19	10,8±0,20
IV опытная	20	16	80	12,0±0,20*	11,2±0,15*
V опытная	20	18	90	12,2±0,17**	11,8±0,13***

Проведя анализ полученных данных, можно отметить, что в контрольной и I опытной группах оплодотворяемость составляет 70 %, всего поросят – 11,1-11,3 гол., живых – 10,6-10,8 гол. Выявлено увеличение показателей репродукции во II-IV опытных группах: оплодотворяемость повысилась на 5-10 %, общее число поросят – на 0,3-0,7 гол., живых – на 0,4-1,2 гол. соответственно. У животных V опытной группы установлены наибольшие значения изучаемых показателей: оплодотворяемость возросла до 90 %, многоплодие – до 12,2 и 11,8 гол. соответственно.

Заключение: Практическое применение разработанного метода интенсификации двигательной активности и укрепления морфологической целостности спермиев путём комплексного биофизического воздействия на биоматериал хряков-производителей позволяет на 50 % минимизировать снижение подвижности спермиев в течение хранения (разница с контролем составляет 10 п. п.), повысить степень целостности мембран клеток спермиев на 7 %, сократить разницу осмотического давления до 30 мОсм/л, что с высокой долей достоверности способствует повышению оплодотворяемости на 10-20 п. п., а многоплодия – на 10 %.

Литература

1. Богданович, Д. М. Влияние новых сочетаний saniрующих препаратов на качественные показатели спермы хряков-производителей / Д. М. Богданович, А. И. Будевич, О. И. Гливанская // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. – Жодино, 2016. – Т. 51, ч. 1 : Генетика, разведение, селекция, биотехнология размножения и воспроизводство. Технология кормов и кормления, продуктивность. – С. 4-10.
2. Богданович, Д. М. Качество спермы хряков при использовании усовершенствованной ГХЦС-среды и разбавителей зарубежного производства / Д. М. Богданович, О. И. Гливанская // Аспекты животноводства и производства продуктов питания : материалы между-нар. науч.-практ. конф. «Актуальные направления инновационного развития животноводства и современных технологий продуктов питания, медицины и техники», 28-29 нояб. 2017 г. – пос. Персиановский : Донской ГАУ, 2017. – С. 6-11.
3. Гливанская, О. И. Оплодотворяющая способность спермы хряков-производителей при использовании новых saniрующих препаратов / О. И. Гливанская, Д. М. Богданович // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. – Жодино, 2017. – Т. 52, ч. 1 : Генетика, разведение, селекция, биотехнология размножения и воспроизводство. – С. 4-10.
4. Богданович, Д. М. Технология применения биостимуляторов нового поколения для повышения репродуктивных качеств различных половозрастных групп свиней : мет. рек. / Д. М. Богданович, А. И. Будевич, О. И. Гливанская ; Нац. акад. наук Беларуси, Науч.-практический центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству. – Жодино, 2016. – 11 с.
5. Гуськов, А. М. Стимуляция воспроизводительной функции животных препаратами стероидной природы / А. М. Гуськов, Г. И. Пузырина // Использование гормональных препаратов в животноводстве : тез. докл. Всесоюз. науч.-техн. конф., посвящ. 100-летию со дня рожд. акад. М.М. Заводовского, пос. Дубровицы, 1-2 окт. 1991 г. – Москва, 1991. – С. 65-67.
6. Влияние простагландинов на качество спермопродукции хряков-производителей / Д. М. Богданович [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр., посвящ. 70-летию со дня основания Научно-практического центра Национальной академии наук Бе-

ларуси по животноводству. – Жодино, 2019. – Т. 54, ч. 1 : Генетика, разведение, селекция, биотехнология размножения и воспроизводство. Технология кормов и кормления, продуктивность. – С. 7-12.

7. Использование интравагинальных гормональных имплантов пролонгированного действия в технологии искусственного осеменения свиней / Д. М. Богданович [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. – Жодино, 2013. – Т. 48, ч. 1. – С. 31-36. – Авт. также : Будевич А.И., Сахончик П.Е., Зубова Т.В., Шейко Е.И., Линкевич Е.И., Бровко Т.Н., Кизик Т.Г., Турко М.П.

8. Гливанская, О. И. Зависимость качества спермы от концентрации биостимулятора в разбавителе в технологии искусственного осеменения свиней / О. И. Гливанская, Д. М. Богданович // Таврический научный обозреватель. – 2016. - № 5(10), ч. 2. – С. 199-202.

9. Коваленко, В. Ф. Біялагічна актыўны рэчовыні захіснай діі ў свінарстве / В. Ф. Коваленко, Г. М. Почерняева, В. Ф. Почерняева // Вісн. аграр. науки. – 1995. - № 10. – С. 65-70.

10. Kawecka, M. Wpływ stosowania preparatu caromix na wartose nasienia knurow stadnych / M. Kawecka, Ja. Owsiany, E. Jacuno // Zesz. nauk. Zootechn. / AR Szczecinie. – 1994. – № 30. – S. 97-102.

11. Влияние рекомбинантного лактоферрина человека на биологическую полноценность и санитарное качество спермы хряков / Д. М. Богданович [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. – Жодино, 2018. – Т. 53, ч. 1 : Генетика, разведение, селекция, биотехнология размножения и воспроизводство. Технология кормов и кормления, продуктивность. – С. 21-28. – Авт. также: Бровко Т.Н., Шевцов И.Н., Гливанская О.И., Гродникова Н.А.

12. Елисейкин, Д. В. Особенности резистентности и воспроизводительной функции хряков при воздействии лазерным облучением : автореф. дисс. ... канд. с.-х. наук / Елисейкин Д.В. – Витебск, 2003. – 20 с.

13. Инструкция по искусственному осеменению свиней / Е. В. Раковец [и др.]. – Минск, 1998. – 38 с.

Поступила 26.02.2020 г.

УДК 636.2.082.4:591.564

Д.М. БОГДАНОВИЧ, С.Н. ПАЙТЕРОВ, С.А. САПСАЛЁВ,
Ю.К. КИРИКОВИЧ, В.В. ЖДАНОВИЧ, О.В. ПАЙТЕРОВА

ПРИМЕНЕНИЕ РАСТВОРОВ ВЫСОКОКОНЦЕНТРИРОВАННЫХ КРИОПРОТЕКТОРОВ ПРИ ВИТРИФИКАЦИИ ЭМБРИОНОВ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ IN VITRO

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

В статье представлены данные изучения воздействия растворов высококонцентрированных криопротекторов на эмбрионы млекопитающих, полученных методом *in vitro*.

Установлено, что наибольшими протекторными свойствами обладает 30%-ный раствор этиленгликоля. При его использовании сохранность зародышей после их оттаивания находилась на максимально высоком уровне среди всех исследуемых криопротекто-