

УДК 636.4:616-003.263

А.И. БУДЕВИЧ, Д.М. БОГДАНОВИЧ, Т.В. ЗУБОВА, Т.Н. БРОВКО,
Е.И. ШЕЙКО

**ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОХРАНЯЕМОЙ
ВНЕ ОРГАНИЗМА СПЕРМЫ ХРЯКОВ НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ
КАЧЕСТВА СВИНОМАТОК**

РУП «Научно-практический центр Национальной академии
Беларуси по животноводству»

Введение. Одним из важнейших факторов при разбавлении спермы хряков-производителей в технологии искусственного осеменения свиной является сохранение ее высокой оплодотворяющей способности в течение длительного промежутка времени, при котором в разбавленном эякуляте осуществляются процессы жизнедеятельности половых клеток, приводящие к накоплению продуктов их метаболизма и изменению ингредиентного состава среды, а следовательно, и условий нахождения биоматериала *in vitro* [1].

Экспериментально установлено, что охлаждение спермы приводит к смещению рН среды в щелочную сторону. Данный процесс нежелателен, так как он способствует гидратации белков, что приводит к повреждениям протеиновых структур. Вместе с тем, охлаждение спермы лишь приостанавливает процессы в клетках, не затрагивая их жизненно важных составляющих, однако условия хранения существенно изменяются [2].

Осмотическое давление на спермии производится растворенными в плазме эякулята молекулами и ионами. При смешивании биологических и химических растворов с разной концентрацией растворенных веществ происходит их перераспределение в среде (осмос) и уравнивание концентраций. В случае разбавления эякулята неизотоническим (гипо- или гипертоническим) раствором возможны серьезные нарушения функций спермиев или их гибель. При действии на гаметы гипотонических сред возникает явление плазмолиза, при этом клетки набухают вследствие проникновения в протоплазму воды, изменяют направление движения, хвосты их закручиваются, и в итоге они гибнут. Под давлением гипертонических растворов происходит явление

плазмолиза: вода из протоплазмы спермиев выходит в окружающую среду, вследствие чего они сморщиваются, двигательный аппарат деформируется, что также приводит к их гибели [3, 4, 5].

Наиболее благоприятно для сохранения полноценности половых клеток осмотическое давление среды, равное осмотическому давлению внутри спермия, которое составляет 8-9 атм. По данным же других авторов [1], колебания значения указанного фактора находятся в пределах 6,7-8,7 атм. После инкубации спермиев при 39° С в течение 15 и 120 мин в неизотонических разбавителях количество спермиев с нормальной акросомой значительно снижается [6]. Хранение спермы вне организма производителей приводит к изменению величины осмоса с 8,49 атм. при эякуляции до 8,4 атм. после 24 часов хранения [7], что, соответственно, негативно влияет на спермий. Однако, по данным Беликова А.А. и Очковской Т.Н. [8], половые гаметы лучше сохраняют свою активность в растворах хлористого натрия и глюкозы при 6-8 атм.

В других исследованиях [9] указано на важнейшую роль, которую играет изучение физико-химических закономерностей спермы, особенно рН и осмотического давления, без чего невозможно точно спрогнозировать ее качество, совершенствовать применяемые и разрабатывать новые синтетические среды для разбавления и хранения спермы вне организма.

В связи с вышеизложенным, целью исследований явилось изучение физико-химических параметров спермы хряков при хранении во взаимосвязи с ее качеством и показателями репродукции свиноматок.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в РУСП «Заречье» Минской области и лаборатории воспроизводства и генной инженерии сельскохозяйственных животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». Использовались эякуляты от 11 производителей крупной белой породы в возрасте 2-3 года живой массой 250-300 кг. Сперму получали мануальным методом при режиме взятия одна садка в 4-5 дней. Органолептическая и микроскопическая оценка эякулятов хряков осуществлялась с применением биологического микроскопа Биолам-70 по следующим показателям:

- объём эякулята (мл) – измерением в мерном цилиндре;
- консистенция (густота) – визуально под микроскопом;
- подвижность спермиев (балл) – под микроскопом по 10-балльной шкале;
- концентрация спермиев (млн./мл) – при помощи счётной камеры Горяева по Левину Н. П. (1984);
- выживаемость спермиев вне организма (балл/час) – по методу Милованова В.К. (1982).

Свежеполученную сперму, пригодную к дальнейшему использованию, разбавляли глюкозо-хелато-цитрато-сульфатной (ГХЦС) средой в соотношении от 1:1 до 1:3 в соответствии с «Инструкцией по искусственному осеменению свиней» (1998) [10]. Хранили разбавленные эякуляты в защищенном от прямых солнечных лучей месте при температуре 16-18°C.

В качестве основных физико-химических показателей спермы изучались концентрация ионов водорода и осмотическое давление отдельно в свежеполученной сперме, отдельно в среде и после разбавления эякулятов с применением рН-метра Hanna (Италия). Определялась взаимосвязь рН с подвижностью и выживаемостью спермиев в свежеразбавленных эякулятах и через 1, 2, 3, 4, 5, 6 суток хранения при температуре 16-18°C.

Измерения осмотического давления проводили с использованием осмометра Fiske-210. Кроме того, изучалась динамика осмоса через 1, 2, 3, 4, 5, 6 суток хранения разбавленной спермы в один и тот же временной промежуток.

На третьем этапе экспериментов исследовалась оплодотворяемость (по опоросам) и репродуктивные качества свиноматок:

- ✓ многоплодие, гол.;
- ✓ масса гнезда при рождении, кг;
- ✓ молочность, кг.

Были сформированы контрольная группа (n=10), в которую вошли животные с осеменением свежеполученной спермой, и 4 опытных (по 10 гол. в каждой), осемененные спермой различного срока хранения: I группа – продолжительностью хранения 1-2 суток, II группа – 3-4 суток, III группа – 5-6 суток. Опытные образцы предварительно оценивались по показателям рН и осмосу.

Выявление в охоте и осеменение свиноматок осуществлялось в соответствии с «Инструкцией по искусственному осеменению свиней» (1998) [10].

Результаты эксперимента и их обсуждение. Результаты изучения физико-химических показателей эякулятов во взаимосвязи с подвижностью и выживаемостью спермиев в течение длительного хранения отражены в таблицах 1 и 2.

Из данных таблицы 1 видно, что использование при разбавлении эякулятов глюкозо-хелато-цитрато-сульфатной (ГХЦС) среды не оказывает существенного влияния на гомеостаз и двигательную активность половых гамет: подвижность осталась без изменений, а по показателям рН и осмоса произошло выравнивание величин между свежеполученной спермой и разбавителем.

Таблица 1 – Динамика физико-химических показателей спермы хряков-производителей при разбавлении

Группы	Показатели		
	pH	осмос, мОсм	подвижность, баллы
Свежеполученная сперма (n=32)	7,03±0,06	307,25±1,75	7,78±0,22
Синтетическая среда	6,65±0,02	312,5±2,77	–
Разбавленная сперма (n=36)	6,88±0,04	305,61±2,21	7,72±0,21

Представленные в таблице 2 данные свидетельствуют о том, что при хранении разбавленных эякулятов в течение 6 суток происходят существенные изменения, как физико-химических показателей, так и в подвижности половых клеток. Так, величина pH спермы за время хранения изменилась с 6,84 до 7,19 (5,11 %) в сторону большей щелочности ($P<0,02$, $P<0,01$). Отмечено также повышение осмотического давления с 305,29 до 339,56 мОсм (11,2 %) после 6 суток хранения ($P<0,05$, $P<0,02$, $P<0,01$). Подвижность половых гамет, в свою очередь, снизилась с 7,71 до 1,5 балла.

Таблица 2 – Динамика физико-химических показателей спермы хряков-производителей при хранении

Время хранения, сутки	Показатели		
	pH	осмос, мОсм	подвижность, баллы
Свежеполученная разбавленная сперма (n=21)	6,84±0,05	305,29±2,45	7,71±0,19
1 (n=21)	6,87±0,05	298,48±3,28	6,56±0,16
2 (n=21)	6,97±0,05	311,33±3,95	5,86±0,19
3 (n=21)	6,95±0,05	316,19±3,16	3,71±0,16
4 (n=21)	7,06±0,04**	326,43±3,9*	3,0±0,21
5 (n=18)	7,15±0,05***	328,17±3,79***	1,5±0,19
6 (n=18)	7,19±0,04	339,56±4,11	–

$P<0,02$; $P<0,01$

$P<0,05$; $P<0,02$; $P<0,01$

Для изучения влияния физико-химических показателей спермы на репродукцию свиноматок были проведены исследования, результаты которых отражены в таблице 3.

Таблица 3 – Оплодотворяемость и показатели репродукции свиноматок

Группы	Оплодотворяемость, %	Многоплодие, гол.	Масса гнезда при рождении, кг	Сохранность поросят, %
Контроль	80	11,6±0,42	13,5±0,33	90,1
Опыт 1	70	10,9±0,26	13,0±0,31	90,0
Опыт 2	60	9,8±0,31*	12,2±0,31*	90,4
Опыт 3	40	7,5±0,29*	9,5±0,29*	84,0

P<0,05, P<0,02

Анализ данных таблицы 3 показал, что за время хранения разбавленных эякулятов в течение 144 часов установлено достоверное снижение оплодотворяемости свиноматок и массы гнезда при рождении. Так, в I опытной группе фертильность животных была на 10, многоплодие – на 6, а масса гнезда при рождении – на 4 % ниже по сравнению в контролем, во II после 120-144 часов хранения наблюдалась более существенная отрицательная тенденция статуса указанных репродуктивных качеств животных – значения показателей уменьшились на 40, 20 и 9 %, соответственно. Сохранность поросят при инкубировании спермы *in vitro* в течение 24-48 и 120-144 часов находилась на одинаковом уровне, а в III группе снизилась на 6,1 % по сравнению с контролем.

Заключение. 1. Установлено, что время хранения разбавленных эякулятов хряков *in vitro* влияет на изменение физико-химических показателей спермы: величина pH смещается в сторону большей щелочности и достигает 7,19 (P<0,02, P<0,01), а осмотическое давление повышается до 339,56 мОсм (P<0,05, P<0,02, P<0,01). Вместе с тем, значения указанных величин в свежеполученной разбавленной сперме составили 6,84-6,88 и 305 мОсм, соответственно.

2. Выявлено, что снижение значений показателей репродукции свиноматок происходит в результате хранения разбавленной спермы хряков и зависит от продолжительности ее нахождения вне организма, в течение которого оплодотворяемость снижается на 10-40 %, многоплодие – на 4-20 %, масса гнезда при рождении – на 4-9 % (P<0,05, P<0,02).

3. Разработка и совершенствование синтетических сред для длительного хранения разбавленной спермы вне организма предопределяет постоянный мониторинг показателей (pH и осмотическое давление), характеризующих условия, в которых находятся половые клетки.

Литература

1. Валюшкин, К. Д. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных / К. Д. Валюшкин, Г. Ф. Медведев. – Мн. : Ураджай, 2001. – 438 с.
2. Курбатов, А. Д. Криоконсервация спермы сельскохозяйственных животных / А. Д. Курбатов. – Л. : Агропромиздат, 1988. – 256 с.
3. Курбатов, А. Д. Влияние экзо- и эндоцеллюлярных криопротекторов на сперму хряков / А. Д. Курбатов, Л. Г. Мороз // Бюллетень Всесоюзного НИИ разведения и генетики с.-х. животных. – Л., 1989. – Вып. 65. – С. 5-7.
4. Bronicka, A. Aktualne kryteria oceny oraz uwarunkowania jakosci nasenia knura / A. Bronicka, Z. Dembinski // Med. Weter. – 1999. – Vol. 55, № 7. – S. 436-439.
5. Fisher, P. S. Cryopreservation of boar semen: influence of diluent osmolality on cryosurvival & capacity of frozen-thawed boar sperm to maintain their motility & acrosome integrity / P. S. Fisher, J. B. Shrestha // Ontario swine research. rev. – 1995. – P. 70-71.
6. Schilling, E. Bestimmung der osmotischen Resistenz von Eberspermen und deren Beziehungen zur Konservierungsfähigkeit von Samenproben / E. Schilling, M. Vengust // Zuchthygiene. – 1995. – Vol. 20, № 2. – P. 61-78.
7. Шергин, Н. П. Биохимия сперматозоидов сельскохозяйственных животных / Н. П. Шагов. – М. : Колос, 1967. – 240 с.
8. Беликов, А. А. Пути совершенствования среды для сохранения спермы хряков / А. А. Беликов, Т. Н. Очковская // Шляхи підвищення виробництва та поліпшення якості свинини. – Харків, 1995. – С. 12-13.
9. Крячко, В. Т. Осмотическое давление спермы хряков при разных режимах полового использования / В. Т. Крячко // Новое в воспроизводстве и искусственном осеменении свиней. – Персиановка, 1996. – С. 6.
10. Инструкция по искусственному осеменению свиней / Е. В. Раковец [и др.]. – Мн., 1998. – 38 с.

(поступила 22.02.2010 г.)

УДК 636.4.082.453

А.И. БУДЕВИЧ, Е.И. ЛИНКЕВИЧ, Т.В. ЗУБОВА, Е.И. ШЕЙКО

ПОВЫШЕНИЕ ОПЛОДОТВОРЯЕМОСТИ СВИНОМАТОК ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ОСЕМЕНЕНИИ

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

Введение. Эффективность ведения отрасли свиноводства и получение запланированного количества продукции напрямую зависит от уровня плодовитости и регулярного воспроизведения. В последние годы во всех странах мира, особенно в странах развитого животноводства, ведутся обширные исследования по физиологии размножения с целью максимального использования животных.

Длительность полового цикла у свиньи обычно составляет 20-22 дня, но этот срок может варьировать в пределах 18-24 дней. Охота