

Г.В. Ескин, А.Г. Нарижный

ЦСИО с.-х. животных, ВИЖ

ПОКАЗАТЕЛИ ЗАМОРОЖЕННО-ОТТАЯННОЙ СПЕРМЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ

Учитывая то, что криоконсервация спермы хряков стимулирует перекисидацию липидов, необходимо как можно в большей степени предотвращать этот процесс, т.е. защитить мембраны микросом, митохондрий, особенно чувствительных к перекисидлению.

Известно, что оплодотворяющая способность криоконсервированной спермы снижается по сравнению с использованием свежеполученной спермы (Ерохин А.С., 1994, Наук В.А., 1996). Поэтому изучение веществ, оказывающих криопротективное воздействие на спермий хряков, является очень актуальным.

К таким веществам могут относиться природные и синтетические антиоксиданты (Ерохин А.С., и др., 1996, Foote R. H., Brockett C.C., Kaproth M.T. 2002).

Ранее для этих целей использовались такие антиоксиданты как бутилгидрокситолуол, бутилгидроксанизол, витамин Е.

В данных исследованиях мы использовали такие антиоксиданты как хитозан (натриевая соль сукцината хитозана) и эмоксиум.

Хитозан обладает антибактериальными антиоксидантными и сорбционными свойствами, вследствие чего происходит замедление процессов перекисного окисления липидов. Кроме того введение хитозана увеличивает вязкость среды, что приводит к снижению повреждений сперматозоидов в процессе замораживания-оттаивания. Что касается антимикробной активности хитозана, то наиболее активное действие (81,7-85,0%) проявляет хитозан с молекулярной массой 320 и 350 кДа и степенью деацетилирования 75-85% (Абдулов А.И. и др., 2002).

Низкомолекулярный хитозан с молекулярной массой 20-25 кДа позволяет снизить повреждения мембранных структур сперматозоидов в процессе глубокого замораживания-оттаивания спермы быков-производителей (Фомичев Ю.П., Ерохин А.С., Стрекозов Н.И., 1995).

Второй антиоксидант – эмоксиум является антиоксидантом, обладающим антигипоксической, ангиопротекторной и антиагрегационной активностью (Смирнов

Л.Д., Дюмаев К.М., 1982). В медицине препарат применяется для лечения заболеваний, сопровождающихся усилением перекисного окисления липидов.

Учитывая вышеизложенное, в наших экспериментах мы исследовали оба препарата, а также их сочетание при криоконсервировании спермы хряков.

Материал

и методика исследований

Для замораживания использовали сперму хряков крупной белой породы в возрасте 2-3 лет линий Сталактит, Сват, Терек, Кинг, Драчун, ДельфинЗАО «Константиново» Московской области.

Замораживание проводили на ЦСИО с.-х. животных, а осеменение свиноматок заморожено-оттаянной спермой в ООО «Стройпластмасс – Агропродукт» Ульяновской области.

Для замораживания использовали сперму неконцентрированную разбавленную в соотношении 1:1 со средой.

Свиноматки, которых использовали в опыте, были основными крупной белой породы после отъема поросят.

Эякуляты, взятые от хряков (по 25 эякулятов в каждом опыте) замораживались следующим образом:

1 группа - контрольная (замораживание без антиоксидантов);

2 группа - замораживание спермы с антиоксидантом хитозаном (30 мг%);

3 группа - замораживание спермы с антиоксидантом эмоксиумом (30 мг%);

4 группа - замораживание спермы с комплексом антиоксидантов (по 15 мг%).

После замораживания-оттаивания спермы определяли утечку АСТ из сперматозоидов и процент пригодных к осеменению эякулятов.

Осеменение проводилось двухкратно в одну охоту, объемом спермы 100 мл с подвижностью 30 и более процентов.

Далее изучались показатели воспроизводства свиноматок при осеменении их спермой с антиоксидантами, а также оплодотворяющая способность спермы при хранении ее в замороженном виде 48 месяцев.

Состав среды для замораживания спер-

Таблица 1

Влияние введения антиоксидантов в состав среды на устойчивость спермы хряков к замораживанию (n=25)

Показатели оттаянной спермы	Группа			
	Контроль (без антиоксидантов)	Хитозан (30 мг %)	Эмоксиум (30 мг %)	Хитозан + эмоксиум (15+15 мг%)
Подвижность, %	37±0,2	40±2,5	39±1,4	43±3,5
Сохранность акросом, %	48±6,0	57±3,2	56±5,5*	60±4,0*
Выживаемость при 39° С, ч	3,5±0,1	3,9±0,2	3,9±0,2	4,3±0,2*
ТБЧ (усл.ед.)	6±0,2	3±0,4	3±0,4	2±0,05

*P<0,05

Таблица 2

Действие введения антиоксидантов в синтетическую среду на устойчивость сперматозоидов при замораживании

Группа	Утечка АСТ из сперматозоидов при замораживании и оттаивании	Заморожено эякулятов	Из них после оттаивания с подвижностью 30 и более %	
			число	%
Контроль (без антиоксидантов)	максимальная	44	25	57
Хитозан	средняя	44	37	84
Эмоксиум	средняя	44	37	84
Хитозан+эмоксиум	минимальная	50	43	86

мы хряков был следующим: сахара – 50 г, глюкоза – 8 г, фруктоза – 8 г, динатрий этилендиаминтетраацетат (ЭДТА) – 4 г, натрий лимоннокислый трехзамещенный пятиводный – 3 г, сульфат аммония – 2 г, трис – (оксиметил) – аминотан – 0,6 г, вода дистиллированная – 1000 мл, глицерин – 40 мл, желток куриного яйца свежий – 50 мл.

При введении в среду определенных доз антиоксидантов хитозана и эмоксиума сперму замораживали на фторопластовых пластинах гранулами 0,5 мл и хранили в жидком азоте.

Степень перекисного окисления липидов после замораживания-оттаивания определяли по тиобарбитуровому числу (ТБЧ), являющемуся показателем степени перекисного окисления липидов. Анализ содержания перекисей проводили по методу, описанному A.L. Tappel, H. Zalkin, 1959.

Замороженную сперму перед осеменением или определением качественных показателей размораживали в специальном устройстве, которое позволяет отделять жидкую фракцию от твердой с добавлением 3%-ного р-ра цитрата натрия.

Результаты исследований

В первом опыте исследовали устойчивость спермы к замораживанию при использовании антиоксидантов хитозана и эмоксиума, а также их сочетаний (таблица 1).

Как видно из таблицы 1, качественные показатели спермы после ее замораживания-оттаивания различаются по группам. При замораживании спермы без антиоксидантов подвижность спермиев позволяет использовать сперму для осеменения, однако показатели по сохранности акросом ниже, чем у эякулятов, замороженных с антиоксидантами и особенно с их комплексом на 20,0%, выживаемость при 39° С – на 0,8 часа, а показатель тиобарбитурового числа в контроле в 3 раза превышает его в опыте, где использовался комплекс антиоксидантов. Подвижность спермиев при этом была выше на 6,0%.

Таким образом, введение антиоксидантов в состав сред перед замораживанием позволяет значительно повысить качество заморожено-оттаянной спермы, о чем свидетельствует и показатель утечки АСТ (таблица 2).

Данные таблицы 2 указывают на то, что из незащищенных мембран сперматозоидов в контрольной группе наблюдается наибольшая утечка АСТ и наименьшее количество пригодных к осеменению эякулятов. Введение антиоксидантов в состав среды перед замораживанием позволяет снизить до максимума процесс утечки АСТ из спермиев и повысить на 27-29%, количество пригодных к осе-

Таблица 3
Результативность осеменения свиноматок спермой, замороженной с антиоксидантами

Группы опыта	Осеменено свиноматок	Опоросилось		Родилось поросят	
		число	%	всего	на матку
Контроль (без антиоксидантов)	50	28	58,0	258	9,2±0,3
Хитозан (30 мг%)	52	32	61,5	301	9,4±0,3
Эмоксиум (30 мг%)	51	31	60,8	289	9,3±0,2
Хитозан (15 мг%) + Эмоксиум (15 мг%)	55	37	67,3	352	9,5±0,3

Таблица 4
Влияние разных сроков хранения криоконсервированной спермы с антиоксидантами на результативность осеменения свиноматок

Сроки хранения замороженной спермы, мес.	Осеменено маток	Опоросилось		Многоплодие, гол.	Масса поросят при рождении, кг
		число	%		
0	31	21	67,7	9,28±0,3	1,26
12	30	20	66,7	9,30±0,4	1,28
24	32	22	68,7	9,27±0,3	1,25
36	29	20	68,9	9,30±0,4	1,27
48	28	19	67,8	9,26±0,3	1,26

менению эякулятов. Особенно это заметно при применении комплекса антиоксидантов.

При искусственном осеменении свиноматок заморожено-оттаянной спермой показатели по различным группам приведены в таблице 3.

Прежде всего, введение антиоксидантов, особенно в комплексе, сказалось на оплодотворяемости свиноматок. Этот показатель выше на 9,3% по сравнению с контролем. Введение антиоксидантов по одному дало превышение по опоросам при введении хитозана – на 3,5%, а при введении эмоксиума – 2,8%.

Что касается многоплодия, то оно изменялось незначительно и по группам составило от 0,1% до 0,3% поросят.

Поскольку самые лучшие результаты были получены при замораживании спермы с комплексом антиоксидантов, нами в течение нескольких лет проводился опыт по определению оплодотворяющей способности спермы, хранящейся в течение длительного времени (таблица 4).

Из таблицы 4 следует, что даже через

48 месяцев сперма, замороженная с комплексом антиоксидантов практически не теряет своей оплодотворяющей способности. Также это негативно не отражается на показателях многоплодия и массе поросят при рождении.

Выводы

Следовательно, при введении в состав среды для замораживания спермы хряков антиоксидантов хитозана и эмоксиума, а особенно их сочетания значительно повышаются качественные показатели спермы за счет значительного (в 3 раза) сокращения окислительных процессов, происходящих при криоконсервировании.

Оплодотворяющая способность спермы за счет улучшения ее качества увеличивается от 2,8 до 9,3%, что позволяет уменьшить количество прохолостов и увеличить вход поросят.

Таким образом, наилучшие показатели воспроизводства наблюдаются при введении в состав среды комплекса антиоксидантов (15±15 мг%) хитозана и эмоксиума перед замораживанием спермы.