

НОВЫЙ ПРОТЕКТОР СИНТЕТИЧЕСКОЙ СРЕДЫ ДЛЯ РАЗБАВЛЕНИЯ И КРИОКОНСЕРВАЦИИ СПЕРМЫ БАРАНОВ

Известно, что в устойчивости сперматозоидов к глубокому замораживанию первостепенную роль играют прочность и характер межмолекулярных связей белков и липидов, водородные связи мембран.

При криоконсервации вследствие фазового перехода воды и липидов происходит нарушение этих связей, окисление SH-групп. Это приводит к дестабилизации мембранных белков, потере и инактивации ферментов, перекисному окислению липидов и нарушению метаболизма (Ерохин А.С., Платов Е.М. и др. 1989г., Jones R., Mann T. 1976).

Этому способствует также предшествующее перед криоконсервацией разбавление нативной спермы, ведущее к существенному уменьшению концентрации химических компонентов плазмы спермы. Поэтому оплодотворяющая способность криоконсервированной спермы значительно ниже по сравнению со свежеполученной спермой.

В этой связи необходимо проводить дальнейшие исследования, направленные на поиск более совершенных криопротекторов в составе синтетических сред для разбавления и хранения спермы животных в глубоком замороженном состоянии без потери сперматозоидами основных биологических свойств.

С этой целью многими отечественными и зарубежными учеными (Деряженцев В.И. и др 1991, Watson P.F. Avderson W.J., 1983) изучается криозащитное воздействие на сперматозоиды животных различных природных и синтетических соединений как перспективных экстрацеллюлярных криопротекторов в составе синтетических сред.

По нашему мнению хорошими криопротекторами могут быть природные соединения животного происхождения, которые обладают свойствами поверхностно-активных сорбентов. Одним из таких сорбентов является костный клей, представляющий собой сложное белковое образование - коллаген, относящийся к группе фибриллярных белков - склептоидов. Для него характерно высо-

кое содержание глицина (26%), пролина (14%), оксипролина (12%), оксализина (12%) и полисахаридов (2%).

Являясь отличным сорбентом, костный клей в водных растворах хорошо поглощает воду, образуя несколько видов гелей. Имея высокую молекулярную массу - 300000, при включении в состав сред, он существенно не изменяет осмотическое давление, даже при значительных - 20-25% концентрациях. Эти свойства объясняют его большую роль в регуляции водного обмена в различных соединениях.

В связи с тем, что ранее костный клей не применялся в составе синтетических сред для криоконсервации спермы животных, в задачу наших исследований входило изучение влияния данного биологического полимера на устойчивость спермы баранов к криоконсервации и хранению в глубоком замороженном состоянии.

Методика. Сперму для исследований получали с помощью искусственной вагины от взрослых баранов северо-кавказской породы, принадлежащих ФГУП «Белгородское» по племенной работе.

Использовали эякуляты объемом более 0,5 мл, с концентрацией сперматозоидов не ниже 2,5 млрд/мл и подвижностью 8 баллов и выше. При криоконсервации опытных и контрольных партий разбавленной спермы использовали метод разделенного эякулята.

При изучении криозащитных свойств костного клея в состав ГЖУК - трис-буферной среды вместо декстрина предварительно вводили различные дозы костного клея, изготовленного Московским заводом «Клейтук» (ГОСТ 2067-80).

Разбавленную таким образом сперму баранов после 2-х часовой эквilibрации замораживали в гранулах по 0,2 мл, на фторопластовой пластине в парах жидкого азота, а затем хранили при -196°С.

Для биологического контроля качества криоконсервированной спермы замороженные гранулы оттаивали в водяной бане при 40°С, по одной грануле в стеклянной пробирке с 1мл 3%-ного раствора цитрата натрия. Оценивали на под-

Таблица 1

Влияние костного клея в составе ГЖУК-трис-буферной среды на устойчивость сперматозоидов барана к замораживанию

Концентрация костного клея в среде, г/100мл	Подвижность семени после оттаивания, %	Абсолютный показатель живучести, Усл. ед.	Концентрация водородных ионов, pH
2,0	43 ± 1,6	334,0 ± 12,5	6,83
2,5	46 ± 1,3	354,0 ± 10,7	6,78
3,0	42 ± 0,9	282,0 ± 13,3	6,70
3,5	41 ± 1,4	245,0 ± 12,1	6,65
(контроль)	43 ± 1,5	286,0 ± 12,1	6,90

Таблица 2

Влияние костного клея в составе ГЖУК-трис-буферной среды на оплодотворяемость овцематок

Криопротектор	Подвижность, балл	Абс. показатель Живучести, усл.ед.	Осеменено, Юлов	Объяснилось, гол. - %.
Костный Клей	4,5 ± 0,04	374 ± 12,3x	260	149 - 55,3 x
Декстрин (контроль)	4,2 ± 0,03	315 ± 10,4	285	137 - 44,8

x - P < 0,01.

живность и инкубировали при 38° С. Через каждый час инкубации проверяли активность сперматозоидов вплоть до полной их гибели и вычисляли абсолютный показатель живучести спермы.

После подбора оптимальной концентрации костного клея в составе криоконсервированной среды для спермы барана, нами были проведены научно-производственные опыты по искусственному осеменению овцематок. Осеменение проводили двукратно утром и вечером дозами по 0,2 мл замороженно-оттаянной спермы. В качестве контроля использовали ГЖУК-трис-буферную среду.

Результаты исследований. Экспериментальные данные по изучению влияния костного клея на биологические показатели сперматозоидов после криоконсервации представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, самые высокие показатели качества спермы были получены после оттаивания второго опытного образца, где содержалось 2,5% костного клея. Активность сперматозоидов достигала 46%, а абсолютный показатель живучести - 354 усл.ед. Это было выше аналогичных показателей полученных в контроле (среда без костного клея), по активности спермиев на 3%, а по абсолютному показателю живучести - на 23,6%. Полученная разница статистически достоверна P < 0,01.

На основании полученных данных были проведены научно - производственные опыты по изучению влияния оптимальной концентрации костного клея в составе

ГЖУК-трис-буферной среды на оплодотворяемость овцематок (таблица 2).

Из данных таблицы 2 видно, что костный клей, включенный в состав ГЖУК-трис-буферной среды, как криопротектор лучше способствует сохранению биологической полноценности сперматозоидов после криоконсервации чем декстрин. Подвижность сперматозоидов в опытной среде была равна 4,5 балла, живучесть - 374 условных единиц. Это выше, чем было получено в контроле соответственно на 70% и 18,7%. При искусственном осеменении овец в опытной группе объяснилось 55,3% овцематок, а в контроле - 44,8%. Полученная в пользу опыта разница - 10,5%, статистически достоверна, P < 0,01.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что криозащитное действие костного клея в составе ГЖУК-трис-буферной среды выше, чем у декстрина. Этот криозащитный эффект, вероятно, обусловлен не только влиянием костного клея на вязкостные свойства синтетической среды, но так же и тем, что являясь прекрасным сорбентом, в водных растворах он способен к образованию ряда агрегатных свойств, т.е. нескольких видов гелей. Эти свойства объясняют его роль в регуляции водного обмена и поддержании изотонии в среде.

Защитное действие костного клея в составе сконструированной синтетической среды проявляется также в том, что, являясь природным поверхностно-активным веществом, он адсорбируется на поверх-

ности сперматозоидов и, как биологический полимер животного происхождения, лучше, чем декстрин выполняет роль криопротектора - способствует поглощению и витрификации воды непосредственно вокруг сперматозоидов, предохраняя их от соприкосновения с кристаллами льда, снижает эвтектическую точку солей. Следова-

тельно, защитное действие костного клея на сперматозоиды при их криоконсервации выше, чем у других криопротекторов.

Синтетический разбавитель для спермы баранов с содержанием костного клея признан Государственным институтом патентной экспертизы изобретением и на него выдан патент № 2198622 от 2003 года.

SUMMARY

Our results concluded that the new protector complex medium for dilute and cryoconservation of ram semen at optimal concentrations has cryoprotective effect on the ram semen.

Литература

1. Деряженцев В.И., Епишина Т.М. «Научные труды ВНИИ плем» М, 1991, с 9-12.
2. Ерохин А.С., Платов Е.М., Тимофеев К.Н. и др «Доклады ВАСХНИЛ» М, 1989, № 3, с. 30-31.
3. Jones R., Mann T. Proc. R. Soc. Lond. B., 1976, v. 193, p. 317-333.
4. Watson P.F., Avderson W.J. J.Repr. Fert., 1983, v. 69, p. 229-235.

УДК 636. 082. 4 52/55

Т.М. Епишина

Всероссийский НИИ племенного дела

**РЕПРОДУКТИВНЫЕ СПОСОБНОСТИ
РЕМОНТНЫХ СВИНОК
ПРИ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ТОЧЕК**

Известно, что наступление эструса у ремонтных свинок происходит не синхронно и в условиях промышленной технологии содержания довольно часто у них отмечается задержка полового созревания и нарушения половой цикличности.

С целью ускорения наступления полового созревания и синхронизации эструса у ремонтных свинок применяются различные технологические и биологические приемы, в частности стимулируют эструс с помощью иглоукальвания определенных биологически активных точек (Konig R., 1988; Hsia L. C., Lee J.H., 1988).

Акупунктура или иглоукальвание применяется в медицинской практике уже на протяжении тысячелетий, но несмотря на очень древнее происхождение акупунктуры, в ветеринарной практике данный метод стал применяться совсем недавно.

В исследованиях ряда ученых установлена возможность эффективной стимуляции эструса у свиноматок в послеотъемный период с помощью электро-акупунктурного воздействия на биологически активные точки (Ерохин А.С, Макаров М.И., 2002).

В задачу наших исследований входило изучение возможности индуцирования эструса у ремонтных свинок с помощью электростимуляции определенных биологически активных точек.

Исследования были выполнены в ЗАО «Мордовский бекон» республики Мордовия на свинках крупной белой породы.

В своих экспериментах для электростимуляции биологически активных точек у свиной мы использовали, медицинский портативный электростимулятор «ДЭНАС», воздействующий на точки акупунктуры импульсным током. Сертификат соответствия № РОСС РУ.МЕ27. ВО5035. Сертифицированный орган: РОСС РУ.0001.11 МЕ27 РЦАРТ 00.000 РЭ. Физические параметры обработки: длительность серий импульсов 4,5 сек.; длительность паузы между сериями импульсов 2 сек; частота импульсного тока 10 Гц.

Биологически активная точка №38 расположена на дорзо-медиальной линии между последним поясничным и первым крестцовым позвонком, а точка №41- расположена на дорзо-медиальной линии вблизи корня хвоста.