

## Сохранение спермы баранов производитель при +2–+4 °С

**Ротари Дойна**

*Научно-практический институт биотехнологий в животноводстве и ветеринарной  
медицине – Республика Молдова*

plescadoina@mail.ru

### Резюме

Были изучены количественные и качественные показатели спермы, полученное от баранов молдавского типа Каракульской породы. Средний объем эякулята составлял 0,84 мл, с подвижностью 91% и с концентрацией 2,5 млрд/мл. Изучено действие препарата BD-1, синтезированного в Институте Микробиологии и Биотехнологии Академии Наук Республики Молдова, введенного как дополнительный компонент в состав основной среды с целью сохранения качества спермы при +2–+4 °С. Было установлено, что введение в состав основной среды 6% препарата BD-1 оказывает положительное влияние на сохранение спермы. После 144 часов инкубации при +2–+4 °С подвижность сперматозоидов составляла 68% по сравнению с контрольной группой, где этот показатель составлял 45%.

Предлагаемая технология сохранения спермы барана при +2–+4 °С, в состав которой входит разработанная среда для разбавления спермы, содержащая: глюкозу, цитрат натрия, яичный желток, BD-1, позволяет повысить эффективность искусственного осеменения овец.

**Ключевые слова:** овцы, порода, сперма, среда разведения, сохранение

## Preservation of Rams' Sperm at +2–+4 °C

**Doina Rotari**

*Scientific and Practical Institute of Biotechnologies in Animal Husbandry and  
Veterinary Medicine – Republic of Moldova*

plescadoina@mail.ru

**Citation:** Rotari, D. (2020). Preservation of Rams' Sperm at +2–+4 °C. *Zhivotnovadni Nauki*, 57(1), 44-48 (Bg).

### Abstract

Were studied quantitative and qualitative indicators of sperm obtained from rams Karakul Moldovenesc. The average volume of the ejaculate was 0,84 ml, 91% mobility and 2,5 mlrd/ml concentration. The action of the BD-1 preparation synthesized at the Institute of Microbiology and Biotechnology of the Academy of Sciences of the Republic of Moldova was experimented as an additional component introduced into the basic environment regarding the quality of the ram seminal material, preserved at +2–+4 °C. It has been found that the introduction in the composition of the basic medium for 6% dilution of seminal material of BD-1 has a positive influence on the preservation of the semen. After 144 hours of incubation at +2–+4 °C the sperm mobility was 68% compared to the control group where this index was 45%. Artificial insemination of the sheep with refrigerated sperm after 144 hours allowed 71,9% fecundity sheeps.

The proposed technology for conserving the semen of ram at +2–+4 °C which composition proposes the dilution medium for semen, containing: glucose, sodium citrate, egg yolk, BD-1, allows the results of artificial insamination of sheep to be made more efficient.

**Key words:** ram, breed, sperm, dilution medium, preservation, fecundity

## Введение

Методы хранения спермы вне организма основаны на снижении обменных процессов сперматозоидов, это позволяет увеличить сроки их переживаемости и сохранения оплодотворяющей способности (Milovanov, 1962). В настоящее время наиболее широко в овцеводстве применяют краткосрочное хранение разбавленной спермы при температуре +2–+4 °C (Shaydulin, 2007). Для хранения спермы при температуре +2–+4 °C ее разбавляют специальной средой (ГЦЖ) приготовленными по следующим рецептам, на 100 мл бидистиллированной воды: глюкоза – 0,8 г, цитрат натрия – 2,8 г, желток – 20 мл. Сроки хранения спермы при +2–+4 °C весьма небольшие и как правило их используют в течение суток. Даже если сперматозоиды имеют поступательное движение через 3 дня и более, их оплодотворяющая способность резко снижена. Такой короткий срок хранения спермы вызывает затруднения в работе пунктов искусственного осеменения овец (Воеводин, 2012). Для этого требуется усовершенствование данного метода с целью увеличения срока хранения спермы без снижения оплодотворяющей способности сперматозоидов. В связи с этим, необходимы дальнейшее исследования в области совершенствования синтетических сред для хранения спермы как в условиях плюсовых температур, и в замороженном состоянии. Повышения результативности искусственного осеменения овец возможно добиться с помощью использования в средах различных биологических активных соединений (Nauk, 1972, 1973).

## Материал и методы

Объектом исследований были бараны-производители молдавского типа каракульской породы. В опытах использовали клинически здоровых баранов-производителей. Сперму брали в искусственную вагину, качество свежеполученной спермы определяли по общепринятым методикам на объём и концентрацию, а подвижность определяли с использованием компьютерной программы “CEROS”. Для опытов использовали сперму с подвижностью не ниже 80% и концентрацией не ниже 2,5 млрд/мл.

Все исходные компоненты предназначенные для приготовления синтетических сред для разбавления спермы имели степень чистоты “ХЧ” или “ЧДА” и были проверены на безвредность для спермы в соответствии с утвержденными методами контроля их качества. Среды готовили по общепринятой методике, их качество проверяли методом биоконтроля.

В качестве дополнительного компонента введенного в состав основной среды (ГЦЖ) был испытан препарат BD-1, разработанный в институте Микробиологии и Биотехнологии Академии Наук Республики Молдова с целью увеличения сроков хранения спермы баранов. Препарат BD-1 испытывали при введение его в состав основной среды в разных концентрациях от 1 до 10%. Все сравнительные опыты при изучении действия препарата BD-1 изучали на отдельных эякулятах. Качество сохранённой спермы при +2–+4 °C в каждой приготовленной среды после разбавлении спермы проверяли на подвижность через каждые 24 часа, с применением программы CEROS.

## Результаты исследований

Дальнейшее совершенствование метода хранения спермы предусматривает отбор баранов, сперма которых пригодна для использования и не приводит к снижению потерь сперматозоидов в процессе хранения, повышение сохранности биологической полноценности и, соответственно, результативности искусственного осеменения. Значения уровня спермопродукции у баранов позволяет направлять в нужную сторону их использование, что имеет большое значение в эффективность их использования.

При проведении опытов, особое внимание было уделено изучению количества и качества полученной спермы от баранов молдавского типа каракульской породы, а также совершенствования синтетической среды для разбавления спермы баранов и ее протекторные свойства. Впервые рассмотрена и проверена оценка баранов производителей молдавского типа каракульской породы по качеству спермопродукции (табл. 1).

Установлено что бараны молдавского типа каракульской породы характеризуется в вариабельностью показатели спермы. Данные, представленные в таблице, показывают, что средний объем эякулята у баранов производителей составил  $0,84 \pm 0,06$  мл с колебаниями между баранами от 0,4 мл до 1,2 мл. Подвижность свежеполученной спермы составила  $91,0 \pm 1,01\%$ . Концентрация сперма-

тозоидов в 1 мл спермы составила 2,78 млрд., а общее количество сперматозоидов в эякуляте в среднем составила 2,59 млрд/мл.

Полученные экспериментальные данные показывают, что спермопродукция баранов-производителей молдавского типа каракульской породы является более низкой по сравнению со стандартными показателями каракульской породы.

Биоконтроль качества разбавителей позволяет определить действие разрабатываемых сред на подвижность и выживаемость сперматозоидов вне организма. С этой целью нами проведены опыты по усовершенствованию синтетической среды ГЦЖ для разбавления и хранения спермы баранов при  $+2\text{--}+4$  °С путем введения в ее состав препарата BD-1, в концентрациях от 1 до 10 %. Подвижность и выживаемость сперматозоидов при  $+2\text{--}+4$  °С представлены в таблице 2.

Полученные экспериментальные данные показывают, что испытываемый препарат BD-1 не является токсичным для сперматозоидов в испытываемых диапазонах концентрации. После разбавления спермы различными испытываемыми средами, подвижность сперматозоидов была в пределах 80%, а количество сперматозоидов с прямолинейным движением было в пределах 40%.

С увеличением времени хранения разбавленной спермы при  $+2\text{--}+4$  °С данные показатели резко снижались. После 144 часов хранения спермы, подвижность сперматозоидов

**Таблица 1.** Средние данные показателей свежеполученной спермы баранов

**Table 1.** Average data of indicators of freshly received rams semen

Показатель / index	Единицы измерения / units	Статистические параметры / Statistical Parameters				
		n	M ± m	V%	V мин.	V макс.
Объем / Volume	мл	15	$0,84 \pm 0,06$	28,53	0,4	1,2
Подвижность / mobility	%	15	$91 \pm 1,01$	4,38	90	100
Концентрация / concentration	млрд/мл	15	$2,78 \pm 0,05$	24,48	2,06	2,92
Общее число сперматозоидов в эякуляте / The total number of spermatozoa in the ejaculate	млрд	15	$2,59 \pm 0,05$	13,38	2,42	2,86

**Таблица 2.** Подвижность и переживаемость сперматозоидов при +2–+4 °С**Table 2.** Mobility and experience of spermatozoa at +2–+4 °C

Время между исследованиями, ч / Time between researchings, h	Показатели, % / indices, %	Контроль GTJ / control GTJ	Концентрация BD-1 / BD-1 concentration									
			1%	2%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	9%	10%
После разбавления / After dilution	Подвижность / motility	81,3 ± 4,6	82,0 ± 4,7	72,0 ± 14,5	84,0 ± 6,3	86,8 ± 1,5	84,8 ± 4,8	84,3 ± 2,2	88,3 ± 1,5	84,5 ± 3,7	85,3 ± 4,8	79,3 ± 4,9
	Прямолинейные / progressive	39,3 ± 2,3	40,8 ± 2,7	47,0 ± 6,9	38,3 ± 3,3	4,3 ± 3,0	42,3 ± 1,6	38,5 ± 3,2	40,8 ± 3,4	41,0 ± 5,0	45,5 ± 4,3	38,5 ± 4,3
24	Подвижность / motility	81,3 ± 3,2	79,7 ± 6,4	80,3 ± 5,0	82,3 ± 3,5	88,3 ± 3,2	83,3 ± 3,7	81,0 ± 3,6	82,3 ± 3,8	80,3 ± 2,3	83,7 ± 0,9	82,7 ± 4,4
	Прямолинейные / progressive	33,0 ± 1,0	32,2 ± 3,7	32,0 ± 2,1	31,0 ± 2,1	34, ± 3,1	38,3 ± 4,4	37,7 ± 5,9	35,3 ± 3,7	31,7 ± 2,2	35,0 ± 3,5	35,3 ± 7,5
48	Подвижность / motility	81,7 ± 3,7	71,0 ± 5,1	82,0 ± 6,8	73,0 ± 2,9	76, ± 2,3	78,3 ± 5,2	77,0 ± 5,1	84,0 ± 5,5	84,3 ± 6,1	81,7 ± 3,2	80,0 ± 3,2
	Прямолинейные / progressive	38,7 ± 3,4	28,0 ± 4,0	33,3 ± 6,4	31,0 ± 3,5	34, ± 4,3	37,0 ± 4,6	35,3 ± 4,3	41,0 ± 7,8	33,0 ± 3,6	36,0 ± 5,0	28,7 ± 4,7
72	Подвижность / motility	71,3 ± 1,8	65,7 ± 5,9	77,7 ± 3,4	70,3 ± 0,9	76,3 ± 4,5	73,3 ± 6,2	74,7 ± 2,7	78,0 ± 4,0	77,7 ± 1,8	73,0 ± 3,0	75,3 ± 5,5
	Прямолинейные / progressive	28,3 ± 1,2	18,7 ± 1,7	25,0 ± 2,5	31,3 ± 3,5	29,7 ± 4,1	31,3 ± 5,8	30,7 ± 2,3	32,7 ± 5,6	27,0 ± 1,5	32,0 ± 3,1	27,3 ± 4,8
96	Подвижность / motility	72,3 ± 5,5	60,3 ± 12,4	72,0 ± 5,8	73,3 ± 2,9	73,7 ± 6,4	73,7 ± 8,4	73,7 ± 4,8	77,7 ± 5,0	78,3 ± 3,8	81,0 ± 3,8	81,3 ± 5,6
	Прямолинейные / progressive	28,3 ± 6,1	24,0 ± 5,5	23,0 ± 4,7	24,3 ± 3,3	28,7 ± 4,3	29,0 ± 3,5	26,7 ± 0,9	29,7 ± 4,8	28,3 ± 1,8	28,3 ± 2,4	29,7 ± 9,6
120	Подвижность / motility	52,0 ± 6,0	52,5 ± 12,9	53,5 ± 5,2	64,3 ± 5,0	65,3 ± 3,7	68,5 ± 6,2	67,3 ± 8,8	74,0 ± 4,9	69,3 ± 9,4	68,8 ± 4,2	65,5 ± 4,8
	Прямолинейные / progressive	12,5 ± 3,0	12,5 ± 4,6	10,8 ± 3,3	21,3 ± 3,0	18,3 ± 3,4	27,3 ± 2,8	21,0 ± 5,1	18,5 ± 1,8	23,5 ± 8,4	23,5 ± 4,6	22,3 ± 6,2
144	Подвижность / motility	45,7 ± 8,2	45,7 ± 8,2	31,7 ± 16,6	36,3 ± 7,4	37,0 ± 4,7	60,3 ± 7,6	69,0 ± 2,5	68,0 ± 5,0	56,3 ± 3,3	61,0 ± 3,6	61,7 ± 0,3
	Прямолинейные / progressive	8,7 ± 5,2	3,0 ± 2,5	4,3 ± 1,9	8,7 ± 2,0	6,3 ± 2,4	13,0 ± 6,6	16,0 ± 6,0	14,7 ± 0,3	14,0 ± 1,5	15,0 ± 3,5	13,3 ± 4,5
168	Подвижность / motility	25,8 ± 10,0	33,5 ± 13,9	21,5 ± 11,0	45,3 ± 8,4	43,0 ± 18,4	47,5 ± 8,9	48,8 ± 6,9	57,8 ± 2,5	56,5 ± 7,5	45,8 ± 6,1	48,8 ± 12,8
	Прямолинейные / progressive	6,0 ± 5,4	3,8 ± 1,9	2,5 ± 2,2	6,8 ± 4,9	13,3 ± 7,5	12,0 ± 5,6	5,5 ± 1,7	11,8 ± 5,7	7,5 ± 2,0	4,0 ± 1,3	6,3 ± 2,8
192	Подвижность / motility	15,3 ± 8,3	12,7 ± 7,2	21,0 ± 3,8	31,0 ± 6,9	37,0 ± 14,0	44,3 ± 5,8	50,3 ± 6,1	53,0 ± 3,5	45,3 ± 11,8	29,0 ± 5,7	44,3 ± 9,8
	Прямолинейные / progressive	1,0 ± 0,6	1,0 ± 0,6	1,3 ± 0,3	1,7 ± 0,7	5,7 ± 3,7	6,0 ± 2,0	7,0 ± 4,5	8,0 ± 3,5	8,7 ± 5,4	2,0 ± 0,6	3,7 ± 1,5

в опытной группе, где концентрация препарата BD-1 была в пределах 6–7%, составила 68–69%, тогда как в контрольной группе этот показатель снизился и составил только  $45,7 \pm 8,1\%$ .

Аналогичные изменения произошли и с количеством сперматозоидов с прямолинейным движением. В опытной группе, где концентрация препарата BD-1 была равна 6–7% после 144 часов хранения спермы, этот показатель составил от 16 до 15%, тогда как в контрольной группе, данный показатель был равен 4,7%.

В результате проведенных исследований была предложена усовершенствованная синтетическая среда следующего состава: на 100 мл бидистиллированной воды, глюкоза – 0,8 г, лимоннокислый натрий – 2,8 г, желток куриных яиц – 20 мл, BD-1 – 6% и антибиотики.

Предлагаемую усовершенствованную среду проверяли в производственных условиях по искусственному осеменению овец. Сперму после получения разбавляли 1:2 и 1:3 и ставили на хранение в холодильник при +2–+4 °С. Охоту у овец выявляли баранами пробниками. Осемнение двукратное. Данные по результатам искусственного осеменения овец представлены в таблице 3.

Представленные данные показывают, что спустя 30 дней после последнего осеменения пришли повторно в охоту 30 голов, что составляет 40,5% от первично осемененных овец.

### Выводы

Впервые установлено действие препарата BD-1, введенного как дополнительный ком-

**Таблица 3.** Результаты искусственного осеменения овец

**Table 3.** Results of artificial insemination of sheep

Осеменено овец, голов / Inseminated sheep, heads	пришли повторно в охоту / came back in the period of estrus	
	Голов / heads	%
74	30	40,5

понент в состав основной синтетической среды – ГЦЖ, на продолжительность хранения спермы баранов-производителей при +2–+4 °С.

Через 144 часа хранения спермы, подвижность сперматозоидов составила 68–69%.

### Литература

- Milovanov, V. K.** (1962). The biology of reproduction and the artificial insemination of animals. *The biology of reproduction and the artificial insemination of animals*. Moscow. (RU).
- Nauk, V. A.** (1973). Preservation of ram seed and change in amino acid content at low temperatures. In.: *Breeding and feeding of farm animals*. Chisinau. Shtiintsa, 111-113. (MD).
- Nauk, V. A.** (1972). Influence of technological processing of a seed on permeability of membranes of zhivchikov and stability of their protein-lipid complexes. *J. Sheep breeding*. 10. 31-33. (RU).
- Shaydulin, I. N.** (2007). Preservation of sperm of rams and its use in pedigree sheep breeding. In.: *Materials of the scientific-practical conference "Actual problems of the biology of animal reproduction"*, October 25–26. Dubrovitsy. 68-74. (RU).
- Voevodin, V. A.** (2006). Improvement of biotechnological methods for obtaining and storing the seed of domestic goats and their hybrids with Siberian goat. The Author's abstract of the dissertation of a Cand. Dibrowitz. 22. (RU).