

Результаты внутриматочного лапароскопического осеменения овец замороженной-оттаянной спермой*

Т.В. Мамонтова, к.с.-х.н., М.М. Айбазов, д.с.-х.н., профессор, ФГБНУ Всероссийский НИИ овцеводства и козоводства; М.С. Сеитов, д.б.н., профессор, ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ

В 2017 г. исполнилось 70 лет научному открытию «Свойства живчиков млекопитающих сохранять биологическую полноценность после быстрого замораживания» (№ 103, приоритет от 1 июня 1947 г.), авторами которого являются выдающиеся отечественные учёные В.К. Милованов, И.И. Соколовская и И.В. Смирнов. В формуле открытия констатируется: «Экспериментально установлено неизвестное ранее свойство живчиков млекопитающих сохранять биологическую полноценность и генетическую информацию после замораживания при температуре ниже -20°C , например в сжиженных газах, с получением нормального потомства от замороженного семени». Благодаря этому открытию селекционеры располагают сейчас богатейшим генетическим материалом: накоплены сотни миллионов доз спермы высокоценных быков, жеребцов, хряков и других видов сельскохозяйственных и диких животных [1–4].

Метод криоконсервации спермы барана получил определённое распространение в практике овцеводства, открыл возможности улучшения селекционной работы за счёт рационального использования генетического потенциала наиболее ценных животных, транспортировки и широкого обмена спермой [3, 5]. Однако, как показывает практика, потенциальные возможности этого перспективного метода реализуются не в полной мере, основной причиной чего является низкая (30–45%) оплодотворяемость овец, осеменённых

замороженной спермой [3, 6]. В то же время экспериментально было доказано, что при внутриматочном (внутриутробном) введении замороженной спермы оплодотворяемость овец достигает 60–70%, а в отдельных опытах – до 80–85% [7, 11]. Это свидетельствовало о том, что, несмотря на различные повреждения в процессе криоконсервации и дефростации, спермии сохраняют достаточно высокую биологическую полноценность и оплодотворяющую способность.

В литературе есть результаты внутриматочного лапароскопического осеменения замороженной спермой овец, как правило, после предварительной гормональной синхронизации эструса. В ранее проведённом опыте при внутриматочном осеменении овец замороженной спермой объягнулось 50,7% овец [7]. В аналогичном эксперименте получили оплодотворяемость 57,8–66,0% [12]. В экспериментах, проведённых на овцах ставропольской породы, были получены следующие результаты: от 868 овец, осеменённых внутриматочно замороженной спермой с помощью лапароскопии, было получено 473 ягненка (оплодотворяемость составила 54,5%). При этом колебания между разными баранами по показателю оплодотворяемости составили от 23,4 до 69,2% [8, 9]. В аналогичном эксперименте из 5 овец, эструс у которых выявляли через каждые 6 час. и осеменяли через 24 час. после выявления, объягнулось 4 гол., или 80% [12].

Материал и методы исследования. Собственное исследование по внутриматочному осеменению овец замороженной-оттаянной спермой проведено в осенний сезон 2016 г. Сперма была заморожена в гранулах объёмом 0,2 мл и хранилась в жидком азоте при температуре -196°C . Перед внутрима-

* Исследование поддержано программой развития биоресурсных коллекций ФАНО

точным введением криоконсервированную сперму оттаивали в специальном устройстве. К использованию допускалась сперма, имеющая подвижность не менее 4 баллов (40% спермиев имели прямолинейное поступательное движение).

Выявление овец в состоянии спонтанной (естественной) охоты проводили при помощи вазэктомированных баранов-пробников для обеспечения чистоты эксперимента. При этом по времени проведения выборки овцы были разделены на две группы.

В I гр. овцематок в состоянии эструса выявляли один раз в сутки утром с 06:30 до 08:00. Отобранных в охоте животных осеменяли внутриматочно через 2–12 час. после выборки.

Во II гр. овец в охоте выбирали два раза в сутки: утром (с 06:30 до 08:00) и вечером (с 18:30 до 20:00), т.е. с интервалом 12 час.

Отобранных в охоте животных осеменяли внутриматочно через 13–16 час. после выборки.

Внутриматочное осеменение проводили с помощью комплекта лапароскопического оборудования (Richard Wolf, Germany), используя методику и технику введения, описанную ранее [7]. Для осеменения в каждый рог матки при помощи специального шприца-катетера инъецировали оттаянную сперму в объёме 0,05 мл с содержанием $20 \cdot 10^6$ подвижных спермиев. Были учтены овцы, обьягнвившиеся через 145–155 дн. после осеменения.

Результаты исследования. Результаты внутриматочного осеменения овец замороженной спермой представлены в таблице.

Данные таблицы показывают, что в эксперименте двукратная в сутки выборка овец в охоте и внутриматочное осеменение через 12–16 час. после выборки имела достоверные преимущества над однократной в сутки утренней выборкой и осеменением через 2–12 час. Оплодотворяемость овец во II гр. составляла 68,8%, (обьягнилось 55 из 80 овец) при плодовитости 130,9% (получено 72 ягнёнка от 45 овцематок). В I гр. овец эти показатели составляли соответственно 43,7% (32 из 80 овец) и 125,0% (40 от 32 овец). Разница в пользу II гр. овец, которых отбирали в состоянии эструса два раза в сутки, была достоверна по показателю оплодотворяемости ($P < 0,01$).

Для понимания полученных в наших экспериментах результатов представляется важным знание

биологических особенностей реализации воспроизводительной функции овец. Так, по данным авторитетных исследователей, продолжительность эструса у овцематок варьирует в достаточно широких пределах и составляет 38 [10] и 24–42 час. [11]. Вторым важным моментом является время овуляции. Установлено, что яйцеклетка овулирует от начала половой охоты через 30–32 [10] и 25–30 час. [13].

Следующим важным моментом является продолжительность времени после овуляции, в течение которого яйцеклетка способна оплодотвориться. Это время составляет, по данным А.И. Лопырина [8], не более 5 час., по данным других источников – 12–24 час. [11]. Кроме того, необходимо знать время, в течение которого замороженная-оттаянная сперма жизнеспособна. Жизнеспособность спермы в рогах матки составляет 15–16 час., а в яйцеводах – от 6,5 до 10 час. [6]. Наконец, необходимо отметить, что существуют различия между баранами. Во-первых, по криорезистентности, или устойчивости к замораживанию их спермы; во-вторых, по выживаемости, или продолжительности жизни спермы после оттаивания; в-третьих, по оплодотворяющей способности замороженной-оттаянной спермы.

Выводы. В соответствии с приведёнными особенностями биологии размножения овец для объяснения полученных результатов нами сделано несколько предположений.

По методике эксперимента овец в охоте следует выбирать два раза в сутки: утром (с 06.30 до 08.00) и вечером (с 18.30 до 20.00), т.е. с интервалом 12 час. и осеменять внутриматочно через 13–16 час. после выборки.

Если исходить из того, что овцы в течение суток приходят в охоту равномерно, то при второй и каждой последующей выборке будут отбираться овцематки с продолжительностью эструса от 1 до 12 час. К моменту осеменения (через 12–16 час. после выборки) продолжительность эструса у них составит от 13 до 27 час. Исходя из средней продолжительности половой охоты, которая составляет 36 час., и среднего времени овуляции и выхода яйцеклетки в яйцепровод, которое составляет 26–28 час. от начала эструса, оптимальное время для внутриматочного введения спермы всей группе овцематок приходится на предлагаемое нами

Влияние частоты и времени выявления половой охоты на результаты ягнения овец после лапароскопического осеменения замороженной спермой

Группа	Время и частота выборки овец в охоте	Период времени от выборки до ЛО, час.	Осеменено овец, гол.	Из них обьягнилось		Родилось ягнят	
				гол.	%	гол.	%
I	один раз в сутки, утром (с 06.30 до 08.00)	2 – 12	80	32	43,7	40	125,0
II	два раза в сутки: утром (с 06.30 до 08.00) и вечером (с 18.30 до 20.00) т.е. с интервалом 12 час.	12 – 16	80	55	68,8	72	130,9

время, т.е. 13–16 часов после выборки. Учитывая, что замороженная-оттаянная сперма живёт в рогах матки 15–16 час., а яйцеклетке необходимо время для продвижения в нижнюю треть яйцепровода, где, как правило, происходит оплодотворение, то становится понятной результативность предлагаемого нами варианта выборки, который позволяет создать максимально благоприятные условия для встречи мужских (спермии) и женской (яйцеклетка) гамет для получения высокой оплодотворяемости овец.

Примерно так, по нашему мнению, теоретически выглядит зависимость эффективности внутриматочного осеменения от кратности выборки овец в охоте и времени их осеменения. На практике эффективность внутриматочного осеменения может зависеть от многих других факторов, таких, как вариации между овцами по продолжительности половой охоты, времени овуляции, качеству спермы баранов и т.д. Тем не менее на основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что лапароскопическое внутриматочное введение замороженной-оттаянной спермы повышает результативность осеменения овец и может быть использовано, например, при использовании дорогостоящей импортированной спермы.

Литература

1. Айбазов М.М. Применение лапароскопии при внутриматочном осеменении и трансплантации эмбрионов у овец // Вестник ветеринарии. 1998. № 5. С. 51.
2. Айбазов М.М., Трубникова П.В., Коваленко Д.В. Воспроизводительные функции баранов австралийской селекции в адаптационном аспекте // Зоотехния. 2007. № 5. С. 29–30.
3. Айбазов М.М. К вопросу о сохранении генофонда и биологической полноценности криоконсервированной спермы / М.М. Айбазов, П.В. Аксенова, К.К. Ашурбегов, Д.В. Коваленко // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. 2011. Т. 1. № 4-1. С. 24–29.
4. Айбазов М.М., Мамонтова Т.В. Криорезистентность эмбрионов коз в зависимости от стадии развития // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. 2013. Т. 3. № 6. С. 14–17.
5. Аксенова П.В., Айбазов М.М., Коваленко Д.В. Рациональное использование генофонда зааненских производителей // Зоотехния. 2011. № 9. С. 6–7.
6. Желтобрюх Н.А., Ивахненко В.К. Совершенствование технологии замораживания и оттаивания спермы барана // Матер. научн.-производ. конф. ВНИИОК. Ставрополь, 1977. С. 27–28.
7. Шарипов Х.К., Сравнительный анализ воспроизводительных качеств полновозрастных маток и маток-первокоток эдильбаевской породы в период их адаптации в условиях Оренбуржья / Х.К. Шарипов, С.А. Белов, М.С. Сеитов, Ш.М. Биктеев, И.В. Ненашев // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2016. № 5 (61). С. 160–161.
8. Мороз В.А., Бурдуковская Т.К., Айбазов М.М. и др. Результаты австрало-российского эксперимента по использованию замороженной и свежеполученной спермы меринсовых баранов австралийской и ставропольской пород методом лапароскопии // Генетика, селекция и качество продукции овец и коз. Сб. науч. тр. ВНИИОК. 1992. С. 93–109.
9. Мороз В.А., Бурдуковская Т.К., Айбазов М.М. и др. Результаты первого этапа австрало-российского эксперимента // Овцеводство. 1993. № 3. С. 10–14.
10. Лопырин А.И. Биология размножения овец. М.: Колос, 1971. 320 с.
11. Evans G., Maxwell W.M.C., Salamon's Artificial insemination of sheep and goats // Butterworths. Sydney. 1987:194 p.
12. Salamon S., Maxwell W.M.C., Evans G. Fertility of ram semen frozen-stored for 16years. Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.1985, vol. 17, p. 62, abstract.
13. Takenaka S, Fukui Y, Ono H. Intrauterine insemination with frozen semen in the ewe using a laparoscope. Jpn. J AnimReprod 1985, Vol. 31, p. 25–27.