

Особенности воспроизводства птицы методом искусственного осеменения с применением новых сред для разбавления спермы

Коноплева А.П., кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник

Трохолис Т.Н., научный сотрудник

Андреева А.А., научный сотрудник

ФГБНУ Федеральный научный центр «Сероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»
Российской академии наук (ФНЦ «ВНИТИП» РАН)



Аннотация: *Воспроизводство сельскохозяйственных птиц методом искусственного осеменения способствует снижению затрат на получение потомства за счет сокращения поголовья самцов и повышения оплодотворенности яиц, а также повышает эффективность селекционной работы. Результативность осеменения в значительной степени определяется разбавлением спермы качественными средами. Новые синтетические среды, созданные в последние годы, испытаны при осеменении различных видов сельскохозяйственных птиц. В статье рассмотрены биологические аспекты искусственного осеменения кур, индеек, цесарок и уток при использовании новых сред для разбавления спермы.*

Ключевые слова: *воспроизводство, искусственное осеменение, куры, индейки, цесарки, утки, сперма, разбавление, среды, спермопродукция, оплодотворенность яиц.*

Введение. Искусственное осеменение имеет значительные преимущества в условиях современных технологий производства яиц и мяса всех видов птицы по сравнению с применением совместного содержания самцов и самок и естественного воспроизводства.

Особое значение искусственное осеменение имеет в бройлерном производстве и производстве племенных яиц при клеточном содержании птицы. В последние годы практикуется также комбинация искусственного осеменения и естественного спаривания в роди-

тельских стадах современных кроссов мясных кур, а также в гусеводстве и утководстве при производстве мулардов.

Для каждого вида птицы разработан и применяется технология осеменения с учетом видовых физиологических и анатомических особенностей. Общим для всех видов является принцип получения спермы с использованием абдоминального массажа, а также применение разбавленной спермы.

Разбавление спермы является одним из главных элементов

эффективности воспроизводства при искусственном осеменении. Оно способствует не только сокращению затрат на содержание самцов за счет расширения полового соотношения, но и повышению оплодотворенности яиц (табл. 1) [1]. Синтетические среды оказывают благотворное влияние на сохранение оплодотворяющей способности спермиев как *in vitro*, так и в половых путях самок. Этот фактор является определяющим при оценке сред для разбавления спермы сельскохозяйственных птиц. Разбавленная сперма должна обеспе-

Таблица 1. Эффективность использования самцов при искусственном осеменении и естественном воспроизводстве [1]

Виды птицы	Соотношение сперма : разбавитель	Доза : осеменения, см ³	Примерное число вводимых спермиев, млн.	Интервал между осеменениями, дни	Соотношение самцы : самки	
					при естественном спаривании	при искусственном осеменении
Куры:						
яичные	1 : 3-5	0,1	70-80	6-7	1 : 12-15	1 : 40
мясные	1 : 2-3	0,1	100-130	5-7	1 : 8-10	1 : 20
Индейки	1 : 5-7	0,1	100-120	7-10	-	1 : 25
Гуси	1 : 2-3	0,1-0,2	60-50	6-7	1 : 3-4	1 : 10-15
Утки	1 : 2-5	0,1	60-70	5-6	1 : 4	1 : 15
Цесарки	1 : 2-4	0,1	50-60	7-8	1 : 4	1 : 10-15

чить оплодотворяющую способность в яйцеводах самок за счет высокой подвижности спермиев и сохранения их ферментной константы. Большое значение имеет также длительное сохранение подвижности спермиев *in vitro*, что необходимо для организации процесса искусственного осеменения в условиях больших объемов производства инкубационных яиц [2,3].

Сперма птиц состоит из спермиев и жидкости, выделяемой при эякуляции клетками семенников, спермовыводящими протоками и клоачными железами.

Спермовыводящие протоки у петухов, цесарей и индюков оканчиваются половыми бугорками, расположенными непосредственно в клоаке; у водоплавающей птицы сперма вытекает по желобку пениса. В том и другом случаях сперма с большой вероятностью может соприкоснуться с окончанием прямой кишки. Вследствие этого контакта эякулят обсеменяется различной микрофлорой и может

служить источником обсеменения яйцевода самок и, как следствие, воспалением их органов яйцеобразования.

Спермии птиц отличаются от спермиев млекопитающих меньшим размером (9,2 мкм³) и менее интенсивным метаболизмом, обуславливающим более низкую подвижность спермиев. По данным В.К. Милованова [4], спермии петуха могут поступательно продвигаться со скоростью 61 мм/ч, что в 6 раз медленнее, чем спермии быков. Строение тела спермиев птиц аналогично спермиям животных, но относительные размеры, форма, аминокислотный состав белков, ферментный набор у них различны. Спермии у всех видов животных состоят из акросомы, головки, шейки и хвостика. Длина спермия находится в пределах от 35 до 65 мкм. Головка спермия несколько удлинённая, с заостренным или спирально закрученным концом. Спермии разных видов птиц отличаются формой головок и расположением осевых

кистей от головки до хвостика. Весь спермий покрыт мембраной.

Семенники у самцов млекопитающих имеют придатки, в которых мембраны покрываются оболочкой, предохраняющей спермии от внешнего повреждения [5]. У птиц придатки семенников отсутствуют, поэтому спермии в большей степени подвержены повреждениям. Многие исследователи считают, что в придатках семенников животных происходит «дозревание» спермиев. Спермии птиц поступают в семяпроводы непосредственно из тела семенника. В отличие от млекопитающих, спермии птиц во внешней среде быстро теряют оплодотворяющую способность при плюсовых температурах, сохраняя при этом подвижность [3].

Установлено, что хранение неразбавленной спермы петухов при комнатной температуре в течение 20 и 60 мин снижает ее оплодотворяющую способность почти на 10% в первом и на 50% во втором случае, а хранение при +30⁰С в течение получаса вообще приводит к нулевой оплодотворенности яиц [6,7]. Хранение эякулятов при температуре 2-4⁰С в течение 3 ч снижает при осеменении количество оплодотворенных яиц кур на 25% [7,8]. Свежеполученная сперма индюков теряет оплодотворяющую способность еще быстрее [8].

Другим важным преимуществом применения разбавленной





спермы является снижение затрат на содержание самцов-производителей за счет расширения полового соотношения [9].

Техника разбавления спермы животных впервые была применена И.И.Ивановым еще в начале прошлого века [10]. Он установил, что в искусственных средах спермии сохраняют оплодотворяющую способность более длительное время, чем в естественной среде, содержащей секреты половых желез.

В течение длительного времени исследователями было испытано множество различных жидкостей в качестве сред для разбавления спермы. Некоторые из них и по сей день успешно используются в животноводстве. Однако из-за отличий спермы эти среды для птиц не эффективны. Об этом свидетельствуют исследования, проведенные учеными СССР в 1950-1960 гг.

На основе детального изучения спермы и сперматогенеза различных видов птиц во ВНИТИП были проведены масштабные исследования, в результате которых были созданы синтетические среды, некоторые из них применяются при воспроизводстве птицы в настоящее время [9, 11].

Спермии животных и птиц - живые клетки, образующиеся в половых железах самцов, семенниках. Характерной особенностью их является способность к поступа-

тельному движению. Движение осуществляется за счет сократительного белка, присутствующего в хвостике спермия. Энергия для движения образуется при дыхании и гликолизе путем сложных биохимических преобразований питательных веществ, находящихся в составе цитоплазмы спермия, или поступающих извне. Оба процесса могут проходить одновременно. Гликолиз происходит в анаэробных условиях за счет разложения сахаров - фруктозы или глюкозы, поэтому сахара являются необходимыми компонентами всех сред [4,5].

При движении спермиев выделяется молочная кислота, излишнее накопление которой лишает их возможности двигаться и приводит к гибели. Количество молочной кислоты зависит от интенсивности движения и концентрации спермиев в эякуляте. Накопление молочной кислоты приводит к агглютинации (склеиванию) спермиев за счет изменения концентрации водородных ионов. Поэтому показатель pH является одним из важнейших при определении состава сред для разбавления спермы.

Эффективные среды должны иметь в своем составе сахара и соответствующее соотношение химических элементов, обеспечивающих поддержание pH, близкого к нейтральному, или слабощелочного, для нейтрализации

молочной кислоты. Среда должна обладать буферной емкостью за счет определенного соотношения электролитов и неэлектролитов. Поэтому соли одновалентных слабодиссоциирующих кислот в средах наиболее предпочтительны.

Учитывая знания, накопленные в области физиологии спермогенеза и спермы различных видов птиц, во ВНИТИП было создано и испытано в производственных условиях множество сред для разбавления спермы.

Отличительной особенностью этих сред является их различное воздействие на сперму различных видов сельскохозяйственных птиц. Одной из задач исследований, проведенных во ВНИТИП в 2010-2017 гг., было создание универсальных сред, эффективных для всех видов птицы при воспроизводстве птиц методом искусственного осеменения.

Материал и методика исследований. Разработка сред для разбавления спермы петухов, индюков, селезней, цесарей осуществлялась в несколько этапов.

Вначале были испытаны вещества с учетом их влияния на выживаемость спермиев; затем изучали их сочетания и влияние на сперму различных видов птиц. За основу были взяты основные компоненты, используемые в ранее созданных средах. В последующем исследовали влияние комплекса сочета-

ний на сохранение подвижности спермиев при разбавлении эякулятов петухов, селезней, гусаков, индюков, цесарей в процессе хранения *in vitro* [1,2,3].

Для работы была использована сперма, имеющая средние показатели концентрации спермиев и их подвижности. Концентрацию спермиев оценивали методом центрифугирования с использованием для подсчета таблицы по Харитонову Н.А. [12]. Подвижность спермиев оценивали под микроскопом при увеличении в 200 раз по 10-балльной шкале. Хранили разбавленную сперму при температуре 5-6⁰С в закрытых флаконах в бытовом холодильнике. Влияние разбавления спермы птиц на оплодотворенность яиц изучали при осеменении кур яичных и мясных кроссов, индеек, уток и цесарок.

Результаты исследований и их обсуждение. Как видно из данных табл. 2, наибольший объем эякулята имеют гусаки, средние показатели объема спермы у которых превышают более чем в три раза сперму цесарей и значительно выше, чем у самцов других видов. Степень разбавления спермы разных видов птиц определяется концентрацией спермиев в эякулятах. Концентрация спермиев самая высокая у индюков, а самая низкая - у гусаков. В целом уровень спермопродукции у различных видов птицы в среднем составляет 0,3-1,4 млрд. в каждом эякуляте.

Таблица 2. Показатели спермопродукции самцов разных видов сельскохозяйственных птиц [9,10]

Виды птицы	Объем эякулята, см ³			Концентрация спермиев, млрд/см ³			Подвижность спермиев, баллы
	max	min*	в среднем	max	min*	в среднем	
Петухи	1,2	0,2	0,35	5,0	2,0	2,5	9-10
Индюки	1,0	0,1	0,2	10	3,0	7,0	6-9
Гусаки	1,3	0,2	0,5	1,3	0,2	0,6	2-8
Селезни	0,5	0,05	0,3	8,0	1,5	3,0	8-9
Цесари	0,02	0,01	0,15	7,0	1,5	4,0	6-10

*Минимальные значения относятся к самцам, используемым для искусственного осеменения.

Самую высокую спермопродукцию имеют индюки, а самую низкую - гусаки [13,14]. Различная концентрация спермиев оказывает влияние на их подвижность во внешней среде [8].

Поэтому основным учитываемым фактором при создании среды являлась оценка подвижности спермиев при разбавлении и хранении *in vitro*.

Был определен оптимальный набор химических компонентов путем изучения влияния каждого на спермию при разбавлении эякулятов. При выборе компонентов исходили из особенностей спермы птиц, существенно отличающейся от спермы животных. Была выявлена идентичность спермиев различных видов птиц *in vitro* по реакции на химические элементы. В каче-

стве основного вещества была выбрана соль, диссоциирующая при растворении на ионы Na⁺ и отрицательно заряженные ионы кислотного остатка, устойчивого к дальнейшей диссоциации. Таким образом, количественное соотношение анионов и катионов создает буферную систему, необходимую для сохранения положительного заряда на спермиях, наличие которого не дает спермиям склеиваться. Кроме того, присутствие электролитов и неэлектролитов способствует поддержанию необходимых параметров осмотического давления, а ионы натрия оказывают положительное влияние на сохранение подвижности, выживаемости спермиев и их оплодотворяющей способности за счет сохранения ферментов. Эта закономерность харак-

Таблица 3. pH сред и выживаемость спермиев в течение 72 ч

Варианты сред	Выживаемость спермиев, абс. ед.	pH свежеприготовленных сред	Варианты сред	Выживаемость спермиев, абс. ед.	pH свежеприготовленных сред
1	1105	7,1	10	1020	7,1
2	1200	7,99	11	1144	8,15
3	1306	7,0	12	1032	8,4
4	1256	7,0	13	1124	6,95
5	1220	8,0	14	1124	8,0
6	1324	7,05	15	1232	8,05
7	1392	7,05	16	1092	7,95
8	1250	7,05	17	888	6,9
9	1020	8,35			





терна для спермы всех видов птиц.

Для обеспечения спермиев энергией движения в среду был введен сахар, который также участвует в поддержании оптимального осмотического давления в разбавителе и служит антиподом для ионов Na^+ .

Было испытано около 8 химических соединений в различных количественных сочетаниях. Влияние концентрации водородных ионов на выживаемость спермиев в течение 3 сут. приведено в табл. 3.

Изучение подвижности спермиев в эякулятах, разбавленных средами с рН в пределах от 6,95 до 8,15, позволило выбрать несколько вариантов разбавителя, в которых подвижность составляла от 8 до 9 баллов. Количество компонентов в этих средах составляло от 3 до 6.

В этих вариантах были использованы в различных соотношениях: соли - тартрат калия-натрия, фосфат калия, гидрокарбонат натрия; винная и уксусная кислоты; а также сахара.

Несмотря на незначительную разницу по выживаемости спермиев в свежеразбавленных эякулятах и рН, близкий по значению в разных сочетаниях, оплодотворяющая способность разбавленной спермы была различной и составляла от 50 до 92%.

В лабораторных опытах было найдено соотношение компонен-

тов, обеспечившее оптимальные значения концентрации водородных ионов при разбавлении среды в дистиллированной воде. Для постоянства рН разбавителя в нужных пределах в состав среды ввели ацетат натрия в количестве, определенном в лабораторных опытах. Помимо сохранения нейтральной или слабощелочной среды при разбавлении спермы, среда должна способствовать также нейтрализации молочной кислоты и углекислого газа, выделяемых спермиями при движении и дыхании.

В дальнейших исследованиях использовали среды с лучшими показателями выживаемости спермиев и оплодотворенности яиц при искусственном осеменении. Изучили изменение рН в этих средах через 1, 5, 24 и 48 ч после разбавления дистиллированной водой и хранения при температуре $5-6^{\circ}C$. Испытуемые среды отличались различным набором и разным количественным соотношением компонентов (табл. 4). Поэтому, как следует из данных таблицы, в применяемых средах при хранении рН изменяется в щелочную сторону пропорционально количеству CO_2 , выделяемому при движе-

нии спермиев.

Как видно из данных таблицы, в разных опытах различия в показателях рН находятся в пределах ошибки измерений. В среднем по 2 экспериментам, в первой среде рН изменяется на 0,7 единицы, во второй - на 0,4. Бóльшая стабильность концентрации водородных ионов наблюдается во 2-й среде. Эти эксперименты свидетельствуют о рациональном подборе компонентов, в результате чего при растворении химические вещества не вступают в реакцию в течение испытуемого времени.

Сперма, разбавленная обеими средами, сохраняла высокие биологические качества в течение 6-8 ч. Оплодотворенность яиц кур при использовании среды №1 составляла 94,5-96%, среды №2 - 93,9-95,0%. Через сутки хранения разбавленной спермы оплодотворенность яиц составила соответственно средам 91,5 и 92,5%, что вполне закономерно.

Среды прошли производственную проверку на различных птицефабриках, имеющих родительские стада кур [15].

Среды №1 и №2, эффективные для разбавления спермы петухов,

Таблица 4. Изменение рН в процессе хранения экспериментальных разбавителей

Среды	Опыты	Свежеприготовленный разбавитель	Время хранения разбавителя, ч			
			1	5	24	48
№1	1	7,1	7,1	7,25	7,4	7,6
	2	7,1	7,25	7,45	7,6	8,0
№2	1	8,05	8,05	8,15	8,2	8,25
	2	8,05	8,15	8,35	8,5	8,65



для осеменения других видов птицы оказались менее эффективными. Поэтому в одной из них несколько изменили соотношение и набор компонентов. Главной задачей при модификации являлось продление срока хранения разбавленной спермы без изменения ее оплодотворяющей способности.

Применение модифицированной среды обеспечило сохранение биологической полноценности спермиев в разбавленных эякулятах петухов *in vitro* в течение 24 ч и продление срока хранения спермы селезней, гусаков, цесарей, индюков на 2, 2,5, 3 и 3 ч соответственно. При этом оплодотворенность яиц кур составила 94,5%, уток - 94,0, гусей - 91,0, цесарок и индеек - 92,0%. Эти показатели значительно выше, чем при естественном спаривании.

Для достижения высоких показателей оплодотворенности яиц необходимо соблюдать технологию осеменения, включающую интервалы между последовательными осеменениями, количество спермиев в каждой дозе вводимой разбавленной спермы, а также глубину введения катетера в яйцевод самки. Техника введения спермы для разных видов птицы различна. Курам, индейкам, цесаркам катетер вводится в яйцевод на глубину 2-3 см, уткам и гусыням - 4 см. Осеменение непосредственно в шейку

матки может привести к ее бактериальному обсеменению и в последующем - к воспалению всего яйцевода.

Глубина введения спермы в яйцевод определяется физиологическими особенностями процесса оплодотворения яиц. Процесс проникновения спермия в бластодиск яйца происходит в течение 20 мин после овуляции, когда желток с бластодиском находится в начале яйцевода, у воронки. В этом отделе яйцевода слизистая имеет складки-крипты в которых скапливаются спермии. Однако основное «хранилище» спермиев расположено в уретро-влагалищном сочленении. Слизистая оболочка в этом месте более складчатая, сюда при введении спермы «заплывает» основная масса мужских половых клеток. Если катетер ввести глубоко, можно повредить крипты и спермии, а при поверхностном осеменении часть спермиев не попадает в крипты, а вытекает наружу, что и случается при естественном спаривании [8,16,17].

Применение разбавителей предусматривает введение санирующих препаратов, или специальных антибиотических средств, перед разбавлением спермы. В качестве санирующих препаратов могут применяться различные виды антибиотиков, используемых при консервации спермы животных. Каждое хозяйство определяет

вид препарата непосредственно для себя, в зависимости от эпизоотического состояния производства, в строгом соответствии с инструкцией для применяемого средства.

Заключение. Таким образом, воспроизводство всех видов птицы методом искусственного осеменения является действенным способом повышения эффективности производства племенных яиц в родительских стадах, репродукторах I и II порядка, а также племенных заводах.

Использование новой универсальной среды для разбавления спермы для искусственного осеменения способствует сохранению оплодотворяющей способности спермиев петухов в течение 24 ч, цесарей и индюков - 7, селезней - 4, гусаков - 3 ч.

Увеличение срока сохранения разбавленной спермы способствует оптимизации труда осеменаторов в условиях производства больших количеств инкубационных яиц и сокращению интервалов между последовательными осеменениями на 1-2 дня. Это позволяет снизить затраты труда при получении инкубационных яиц методом искусственного осеменения на 10-15%.

Литература

1. Коноплева А.П. Технология воспроизводства племенной птицы // Селекционно-племенная работа в птицеводстве. - Сергиев Посад, 2016. - С.136-146.



2. Коноплева А.П., Андреева А.А., Трохолис Т.Н. К вопросу организации искусственного осеменения кур современных мясных кроссов // Птица и птицепродукты. - 2016. - №3. - С. 61-63.
3. Давтян А.Д. Искусственное осеменение в птицеводстве // Обзорн. информ. ВНИТЭИСХ. - М., 1984. - 59 с.
4. Милованов В.К. Биология воспроизводства и искусственное осеменение животных. - М.: Изд-во сельскохозяйственной литературы, журналов и плакатов, 1962. - С. 432-437.
5. Шергин Н.П. Биология сперматозоидов сельскохозяйственных животных. - М.: Колос, 1967. - С. 27-41.
6. Lake P.E., Lorens E.M., Reiman W.D. Further investigations of the carbohydrate metabolism of cock spermatozoa // Nature. - 1962. - V. 194, No 4828. - P. 545-547.
7. Nunsaker W.R., Nunsaker W.R., Aitker J.K., Lindbald G.E. The fertilizing capacity of fowl semen as affected by time and temperature of storage // Poult. Sci. - 1956. - V. 35. - P. 649-653.
8. Давтян А.Д. Воспроизводство и искусственное осеменение сельскохозяйственной птицы. - Сергиев Посад, 1999. - С.67-87.
9. Коноплева А.П. Искусственное осеменение сельскохозяйственной птицы // Промышленное птицеводство; под ред. В.И. Фисинина. - М., 2016. - С.117-136.
10. Иванов И.И. Опыт искусственного оплодотворения птиц // Избр. тр. - М., 1970. - С. 203.
11. Попов И.И., Тур Б.К., Мавродина Т.Г., Давтян А.Д., Ройтер Я.С. Вопросы искусственного осеменения домашних птиц. - СПб. - Пушкин, 2000. - С. 28-32.
12. Методические рекомендации по определению концентрации сперматозоидов в сперме петухов центрифугированием: реком. / Н.А. Харитонов. - МСХ СССР, ВНИТИП, 1976. - 19 с.
13. Ройтер Я.С. Гуси и утки: руководство по разведению и содержанию. - М.: Аквариум Принт, 2011. - С. 78-132.
14. Ройтер Я.С., Коноплева А.П., Трохолис Т.Н., Андреева А.А. Искусственное осеменение уток – эффективный метод получения мулардов // Птица и птицепродукты. - 2018. - №2. - С. 65-68.
15. Коноплева А.П., Рогов А.И., Спичка Н.В. Производственные испытания новых разбавителей спермы сельскохозяйственных птиц // Птица и птицепродукты. - 2018. - №1. - С. 60-62.
16. Wentworth B.W., Winaland B.C., Paton G.D. Fertility of turkey hens correlated with depth of insemination // Poultry Sci. - 1975. - V. 54, No 3. - P. 682-687.
17. Царенко Р.Г., Попов И.И. Глубина введения спермы в яйцевод гусынь при искусственном осеменении // Экспресс-информ. ВНИИТЭИСХ. - ВНИТИП, 1975. - С. 29-30

Для контакта с авторами:
Коноплева Анна Петровна
Тел.: (496) 551-67-53
Трохолис Тамара Николаевна
Андреева Анна Анатольевна
Тел.: (496) 551-71-05
The Protocols of Artificial Insemination in Different Poultry Species Using New Universal Dilutants

Konoplyova A.P., Trokholis T.N., Andreeva A.A.

Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry" of Russian Academy of Sciences

Summary: *Reproduction of poultry with the use of artificial insemination (AI) decreases the expenses due to the reduction in the number of males required and to the increase in egg fertility; AI also improves the efficiency of the programs of selection. The dilution of the sperm with high-quality dilutants can considerably affect the efficiency of AI. New synthetic composite dilutants were developed in the recent years and tested on several poultry species. The biological aspects of AI in chicken, turkey, Guinea fowl, and ducks with the use of these new dilutants are reviewed.*

Key words: *reproduction, artificial insemination, chicken, turkey, Guinea fowl, ducks, sperm, dilution, dilutants, sperm production, egg fertility.*