

# Исследование влияния различных условий хранения на качество сред для искусственного осеменения сельскохозяйственных птиц

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

Трохолис Т.Н., научный сотрудник

Андреева А.А., научный сотрудник

ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН (ФНЦ «ВНИТИП» РАН)

**Аннотация:** Учеными ВНИТИП в последнее десятилетие созданы 2 новых среды для разбавления спермы сельскохозяйственных птиц. Приводятся результаты исследований по технологии хранения этих новых сред в сухом и разбавленном виде при разных температурах. Изучена динамика pH сухих сред, хранившихся при диапазоне температур от +5-6 до +40°C. Оценка качества сред проведена также по показателям подвижности спермиев при разбавлении хранившимися средами. Исследована возможность хранения сред в сухом и жидком виде при минусовой температуре и оплодотворенность яиц при осеменении кур с применением размороженных разбавителей. Стабильность pH сред и показателей подвижности спермиев в разбавленных эякулятах, а также высокая оплодотворенность яиц свидетельствуют о приемлемости кратковременного хранения сухих сред в диапазоне от +5-6°C до +40°C с последующим помещением в холодильник. Использование свежеприготовленных разбавителей обеспечило оплодотворенность яиц на уровне 97,6 и 98,8% соответственно изучаемым средам №1 и №2; разбавителей, хранившихся при +5-6°C - 96,3 и 96,0%; а при -18°C - 98,8 и 96,8%. Подвижность спермиев в разбавленных оттаянными средами эякулятах остается на уровне 9 баллов после хранения сред в течение 1-4 ч и 7-9 баллов - после хранения в течение 24 ч. Проведенные исследования позволяют сделать заключение о высоком качестве вновь созданных сред, оказавшиеся эффективными при различных условиях их хранения и применения.

**Ключевые слова:** сперма птиц, искусственное осеменение, разбавители, температура хранения, подвижность спермиев, оплодотворенность яиц.

**Введение.** Искусственное осеменение животных как эффективный метод их размножения и воспроизводства уже более 100 лет применяется в животноводстве благодаря разработке способов хранения семени вне организма.

Русским ученым И.И. Ивановым в начале XX столетия было установлено, что лучше всего сперма животных сохраняет свою оплодотворяющую способность при разбавлении средами, нейтрализующими продукты обмена, образующиеся в процессе дыхания и дви-

жения спермиев [1]. Применение специальных разбавителей позволило длительно сохранять эякуляты выдающихся производителей - быков, жеребцов и других видов животных, и осеменять большое поголовье самок для получения высокопродуктивного потомства. Для этого также используется замораживание спермы в специальных средах [2].

Применение искусственного осеменения экономически целесообразно в птицеводстве также только при разбавлении спермы [3]. Раз-

бавители, применяемые в животноводстве, для спермы птиц неэффективны вследствие различий сперматогенеза и биологических особенностей спермиев [4,5]. Поэтому на протяжении нескольких десятилетий учеными и практиками проводятся исследования с целью создания наиболее эффективных сред для разбавления спермы самцов всех видов птиц [6,7].

Основным показателем качества разбавителей для спермы сельскохозяйственной птицы является способность спермиев сохра-



нять оплодотворяющую способность как можно более длительное время, оставаясь нетоксичными для несушек при их осеменении. Но с ростом объемов осеменяемого поголовья в промышленных масштабах имеет значение и технологичность приготовления разбавителей, что непосредственно связано с условиями и длительностью хранения сред без снижения их качества.

В последнее десятилетие во ВНИТИП созданы 2 новых среды для разбавления спермы сельскохозяйственных птиц, эффективных для мясной и яичной птицы.

Задачей представленных исследований являлось изучение качества сред, хранившихся в различных температурных условиях в сухом и разбавленном виде [8,9]. Основным показателем оценки являлось изменение pH в процессе хранения от 1 ч до нескольких месяцев, а также подвижность спермиев в эякулятах, разбавленных хранившимися средами [6]. Изучалась также оплодотворяющая способность спермиев после осеменения кур спермой, разбавленной хранившимися средами, в сравнении с применением свежеприготовленных разбавителей.

**Материал и методика исследований.** Работа проводилась в лаборатории искусственного осеменения сельскохозяйственных птиц ВНИТИП, экспериментальном хозяйстве и ООО «Генофонд» (Московская обл.), промышленные испытания - на птицефабриках различных регионов России.

На первом этапе изучали изменение pH в процессе хранения сред в сухом виде в течение суток. Было установлено, что хранение

сухих сред при температуре +5-6 до +25°C не оказывает отрицательного влияния на качество сред при разбавлении спермы: pH изменяется незначительно, а оплодотворенность яиц от осемененных кур остается на уровне контроля, осемененного спермой, разбавленной свежеприготовленной средой. Поэтому в дальнейших исследованиях хранили среды при температуре от +5-6 до +40°C в течение длительного времени и сравнивали со свежеприготовленными разбавителями. Испытанию подлежали 2 среды, различающиеся по набору и количественному соотношению компонентов. На первом этапе сравнение проводили со средой С-2, созданной во ВНИТИП ранее и широко используемой в промышленном птицеводстве страны. После того, как было установлено преимущество новых разбавителей, проводили только сравнение 2 новых сред между собой. В последующем применили хранение сред в сухом и разбавленном виде при температуре -18°C.

Схемы исследований, проведенных с 2016 по 2019 гг., приведены в таблицах вместе с их результатами. В процессе испытаний проводили учет изменения pH при разбавлении хранившихся сред, подвижности спермиев в разбавленных эякулятах, а также оплодотворенности яиц при осеменении кур. Осеменение проводили по традиционной методике, изложенной в рекомендациях [10]. При хранении от +5-6 до +30-40°C фиксировали физическое состояние сред, расфасованных в различных объемах. При осеменении кур в качестве контроля использовали

свежеприготовленные разбавители.

Длительное хранение сред осуществляли при постоянной температуре +5-6°C в условиях обычного холодильника. Для хранения сред при высоких температурах использовали термостат. Среды, хранившиеся в течение от 1 до 2 месяцев в сухом виде, транспортировали и использовали в разных регионах страны при осеменении кур, индеек, цесарок и уток при производстве мулардов. В качестве контроля были взяты данные хранения сред при температуре +5-6°C, оказавшейся оптимальной в предыдущих исследованиях.

Для изучения влияния хранения сред в разбавленном виде было выбрано 2 диапазона температуры: контрольный +5-6°C и опытный -18°C. Для осеменения кур замороженный разбавитель размораживали при комнатной температуре. Разбавляли сперму в соотношениях 1:3 и 1:5, применяемых в случае разбавления и осеменения размороженной спермой.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Динамика pH разбавителей, приготовленных из сред после их хранения в течение суток, представлена в табл. 1.

Хранение сухих сред в условиях комнатной температуры при +24-25°C и в холодильнике при +5-6°C не привело к изменению их физического состояния, они остаются в порошковом виде во всех объемах расфасовки в герметически запаянные полиэтиленовые пакеты.

Высокая температура (+30 и +40°C) придает желтый оттенок обеим средам и изменяет физичес-





Группы Среды	Температура хранения сухих сред, °С	pH сред при постановке на хранение	pH сред после хранения в сухом виде		
			через 24 ч	через 72 ч	через неделю
1 (к)	№1 +5-6	7,05	7,10	7,10	7,10
2 (к)	№2 +5-6	8,10	8,10	8,20	8,15
	комнатная				
3	№1 (+24-25)	7,10	7,10	7,10	7,30
	комнатная				
4	№2 (+24-25)	8,10	8,15	8,00	8,15
5	№1 +30	7,05	7,10	7,15	7,45
6	№2 +30	8,35	8,20	8,05	8,10
7	№1 +40	7,05	7,30	7,75	7,75
8	№2 +40	8,10	8,25	8,65	8,45

Группы	Среды	Температура хранения сухих сред, °С	pH свежеприготовленных сред	pH перед закладкой сухих сред на хранение	pH после 30 дней хранения в холодильнике	Подвижность спермиев при разбавлении эякулятов, баллы	
						свеже-разбавленной спермой	через 24 ч хранения разбавленной спермы
1	№1	+5-6	7,05	7,10	7,20	9	8
2	№2	+5-6	8,10	8,10	8,20	9	9
		комнатная					
3	№1	(+24-25)	7,10	7,10	7,15	9	7
		комнатная					
4	№2	(+24-25)	8,10	8,15	8,15	9	8
5	№1	+30	7,05	7,10	7,45	9	8,5
6	№2	+30	8,35	8,20	8,15	9	9
7	№1	+40	7,05	7,30	7,75	9	7,5
8	№2	+40	8,10	8,25	8,20	9	8,5

кое состояние среды №2. Она преобразуется из порошкового состояния в жидкое уже через 24 ч хранения. При дальнейшем помещении в холодильник при +5-6°C происходит ее кристаллизация. Среда №1 и при +30, и при +40°C оставалась неизменной.

При комнатной температуре, как и при хранении в обычном холодильнике при температуре +5-6°C, pH в обеих средах в течение недели практически не меняется. При +30 и +40°C pH возрастает на 0,30-0,45 единиц, при этом в большей степени меняется в среде №1. Среда №2 более устойчива, и pH изменяется всего на 0,35 единицы. При дальнейшем хранении сред при температуре +5-6°C pH меняется незначительно - на ±0,1-0,3 еди-

ницы, и остается в среде №1 на уровне 7,20-7,45, в среде №2 - 8,10-8,25.

Хранение сухих сред при разных температурах в течение суток при дальнейшем помещении на месяц в холодильник (+5-6°C) не оказало отрицательного влияния

на их качество, о чем свидетельствует высокая подвижность спермиев во всех вариантах при разбавлении спермы (табл. 2).

При разбавлении спермы средой, хранившейся при разных температурах в сухом виде, подвижность спермиев непосредственно после разбавления во всех вариантах составила 9 баллов, а после хранения разбавленной спермы в течение 24 часов - 7-9 баллов. Аналогичная картина прослеживается и после использования разбавленной среды, хранившейся в течение 72 ч в разных температурных условиях.

В среде, разбавленной после хранения в сухом виде в течение недели при температурах +30 и +40°C и в последующем при температуре +5-6°C в течение месяца, подвижность спермиев составила 4-8 балла. Влияния температуры хранения в сухом виде на pH разбавителей и в дальнейшем на подвижность спермиев в разбавленных эякулятах не выявлено.

Для осеменения кур использовали разбавитель, приготовленный из сред, хранившихся при всех изучаемых параметрах. Оплодотворенность яиц от кур, осеменен-

Группы Среды	Температура хранения сухих сред в течение недели, °С	pH сред после хранения в холодильнике в течение 30 дней	Подвижность спермиев, баллы	Оплодотворенность яиц, %
1	№1 +5-6	7,10 / 7,30	9 / 9 <sup>х)</sup>	93,1
2	№2 +5-6	8,00 / 8,20	9 / 9	93,2
	комнатная			
3	№1 (+24-25)	7,25 / 7,20	9 / 9	100
	комнатная			
4	№2 (+24-25)	8,05 / 8,10	9 / 9	94,7
5	№1 +30	7,20 / 7,25	9 / 9	98,6
6	№2 +30	8,05 / 8,10	9 / 9	95,2
7	№1 +40	7,40 / 7,45	9 / 9	91,5
8	№2 +40	8,15 / 8,25	9 / 9	97,1

х) Данные после 2-кратного осеменения виргинных кур.



**Таблица 4. Изменения рН в разбавителях и подвижность спермиев в разбавленных эякулятах**

Среды	Температура хранения разбавителей, °С	рН свежеприготовленной среды	рН через 24 ч хранения среды	Степень разбавления спермы	Подвижность спермиев после разбавления, баллы		
					через 1 ч	через 4 ч	через 24 ч
№ 1	+5 - +6	7,05	7,65	1 : 3	9	9	7
		7,10	7,35	1 : 5	9	9	7,5
	-18	7,05	7,90	1 : 3	9	9	6
		7,10	8,05	1 : 5	9	9	8,5
№ 2	+5 - +6	8,10	8,30	1 : 3	9	9	7,5
		8,15	8,50	1 : 5	9	9	9
	-18	8,10	8,60	1 : 3	9	9	8,5
		8,15	8,75	1 : 5	9	9	9

ных спермой, разбавленной хранившимися средами, представлена в табл. 3. При использовании среды №1 она составила во всех группах 91,5-100%, среды №2 - 93,2-97,1%.

Высокая температура хранения (+30-40°C) не оказала отрицательного влияния на качество разбавителя, приготовленного из хранившейся среды. Хранение при комнатной температуре в течение от 24 ч до недели также не уступало хранению в холодильнике при температуре +5-6°C.

Таким образом, хранение сухих сред в температурных условиях от +5-6 до +40°C не ухудшило их качеств. Хранение при постоянной температуре до +25°C в течение недели при помещении в дальнейшем в холодильник также не оказало отрицательного влияния на качество сред. При высокой температуре обе среды приобретают желтоватый оттенок, а среда №2 из порошкового состояния переходит в жидкое и затем при +5-6°C кристаллизуется. Эти условия часто возникают при транспортировке среды.

В последующих исследованиях изучали возможность хранения разбавленных сред при плюсовой и минусовой температурах. Резуль-

таты исследований представлены в табл. 4.

При хранении разбавленных сред при +5-6 и -18°C в течение 24 ч не отмечено существенного влияния условий хранения на рН; изменения были незначительными, и в среде №1 они составили 0,25-0,60 единиц при +5-6°C и 0,85-0,95 единиц при -18°C, а в среде №2 еще ниже - 0,20-0,45 и 0,50-0,60 единиц соответственно температурам. Подвижность спермиев сохранилась на уровне 9 баллов после 1 и 4 ч хранения и 7-9 баллов - через 24 ч.

Влияние применения замороженных, а затем оттаянных разбавителей на биологические качества спермы приведено в табл. 5.

Разбавитель после замораживания и оттаивания не оказывает отрицательного влияния на биологические качества спермы. Хранение разбавленной среды в условиях холодильника при температуре

+5-6°C также позволяет ей сохранять свои качества. Оплодотворенность яиц остается на высоком уровне во всех изучаемых вариантах хранения, но использование свежеприготовленного разбавителя №2 имеет преимущество по сравнению с хранением при +5-6°C и в замороженном виде.

Совершенно закономерно, что через 24 ч хранения спермы лучшие показатели оплодотворенности яиц получены при более высокой степени разбавления обеими средами.

**Заключение.** Показатели подвижности спермиев в разбавленных эякулятах, а также высокая оплодотворенность яиц свидетельствуют о приемлемости кратковременного хранения сухих сред в диапазоне от +5-6°C до +40°C с последующим помещением в холодильник.

Использование свежеприготовленных разбавителей обеспечило оплодотворенность яиц на уровне 97,6 и 98,8% соответственно изучаемым средам №1 и №2. При осеменении кур спермой, разбавленной хранившимися при температуре +5-6°C разбавителями, получена оплодотворенность яиц 96,3 и 96,0%, а при хранении разбавителей при -18°C - 98,8 и 96,8% соответственно средам.

Таким образом, установлена возможность хранения сред в раз-

**Таблица 5. Результаты применения размороженных разбавителей**

Среда	Группа	рН разбавителя		Температура хранения разбавителя, °С	Подвижность спермиев, баллы	Оплодотворенность яиц, %
		свежеприготовленного	после хранения			
1	(к)	7,05	без хранения		9	97,6
2		7,05	7,45	+5 - +6	9	96,3
3		7,05	7,80	-18	9	98,8
4	(к)	8,45	без хранения		9	98,86
5		8,18	8,45	+5 - +6	9	96,0
6		8,17	8,52	-18	9	96,8





бавленном виде при минусовой температуре. Незначительные изменения pH при хранении не снижают биологические качества спермы при разбавлении оттаянными средами. Подвижность спермиев в разбавленных эякулятах остается на уровне 9 баллов после хранения сред в течение 1-4 ч и 7-9 баллов - после хранения в течение 24 ч.

Проведенные исследования позволяют сделать заключение о высоком качестве вновь созданных сред, оказавшихся эффективными при различных условиях их хранения и применения.

#### Литература

1. Иванов И.И. Искусственное оплодотворение домашних животных. - СПб, 1907. - С. 98-120.
4. Милованов В.К. Биология воспроизводства и искусственное осеменение животных. - М.: Изд-во с.-х. лит-ры, журналов и плакатов, 1962. - С. 212-219.
3. Roiter Ya.S., Konopleva A.P. Universal biotechnological medium for sperm dilution during poultry artificial insemination // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. - 2019. - P. 42020.
4. Искусственное осеменение птицы / А.Д. Курбатов [и др.]. - М.: Агропромиздат, 1987. - С. 35-40.
5. Шергин Н.П. Биохимия сперматозоидов сельскохозяйственных животных. - М.; Колос, 1967. - С. 39-45.
6. Коноплева А.П. Разработка и методы оценки разбавителей при искусственном осеменении сельскохозяйственной птицы / А.П. Коноплева, Т.Н. Трохолис, А.А. Андреева // Птица и птицепродукты. - 2017. - №3. - С. 37-39.
7. Коноплева А.П. Особенности воспроизводства птицы методом искусственного осеменения с применением новых сред для разбавления спермы / А.П. Коноплева, Т.Н. Трохолис, А.А. Андреева // Птицеводство. - 2020. - №1. - С. 4-10.
8. Коноплева А.П. Эффективность применения экспериментальных сред для разбавления спермы индюков / А.П. Коноплева, Т.Н. Трохолис, А.А. Андреева // Птицеводство. - 2019. - №11-12. - С. 13-17.
9. Коноплева А.П. Производственное испытание новых разбавителей спермы сельскохозяйственных птиц / А.П. Коноплева, А.И. Рогов, Н.В. Спичка // Птица и птицепродукты. - 2018. - №1. - С. 60-62.
10. Давтян А.Д. Рекомендации по искусственному осеменению сельскохозяйственной птицы / А.Д. Давтян, А.П. Коноплева, Т.Н. Волконская, А.А. Андреева, Т.Н. Трохолис. - Сергиев Посад: ВНИТИП, 2008. - 35 с.

Для контакта с авторами:

**Коноплева Анна Петровна**

**Тел.: (496) 551-67-53**

**Трохолис Тамара Николаевна**

**Андреева Анна Анатольевна**

**Тел.: (496) 551-71-05**

## The Effects of Different Storage Conditions on the Quality and Efficiency of New Sperm Dilutants for Poultry

Konopleva 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:** In the last decade two new sperm dilutants for poultry were developed in our Center; the effects of the storage of these dilutants in dry and liquid forms at different temperatures and terms on their quality and efficiency were studied. The pH dynamics in powdered dilutants stored at temperatures from +5-6 to +40°C was studied; quality of the stored dilutants was assessed using the motility of sperm cells in diluted sperm and egg fertility in laying hens artificially inseminated with diluted sperm as the criteria. The possibility of freezing of the dilutants in dry and liquid forms was tested. The stability of pH, high motility of sperm cells and high egg fertility evidenced that dry dilutants could be effectively stored at +5-40°C for short periods with subsequent long-term storage in a freezer. Freshly made liquid dilutants No 1 and No 2 provided egg fertility 97.6 and 98.8%, respectively; after the storage of liquid dilutants at +5-6°C egg fertility was 96.3 and 96.0%, at -18°C 98.8 and 96.8%, respectively. The dilution of the sperm with defrosted dilutants resulted in the motility of sperm cells 9 scores (out of 10) after 1-4 hours of the storage and 7-9 scores after 24 hours. The results of the study confirmed high quality and efficiency of the new dilutants with different conditions of their storage.

**Key words:** avian sperm, artificial insemination, sperm dilutants, storage temperature, motility of sperm cells, egg fertility.