

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМЫ МАРАЛА,
ОТОБРАННОЙ В ПАНТОРЕЗНОМ СТАНКЕ ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИMICROBIOLOGICAL INDICES OF MARAL SEMEN TAKEN
IN ANTLER CUTTING BOX AFTER CRYOPRESERVATION

Ключевые слова: маралы, искусственное осеменение, сперматозоиды, жидкий азот, криоконсервация, бактериологическая загрязненность, бактериологическое исследование, микологическое исследование, препуций, санирующий препарат, банк семени.

Искусственное осеменение – один из путей повышения продуктивности животных. Отсутствие в пантовом оленеводстве России банка качественной спермопродукции не дает возможности проводить искусственное осеменение маралов и тем самым приводит к нерациональному и малоэффективному ведению отрасли. Искусственное осеменение позволит отрасли мараловодства оставаться конкурентоспособной на мировой арене, а именно расширить селекционно-племенную работу в мараловодстве и получить новые породы, типы и группы животных, имеющие высокую продуктивность и генетический потенциал. Для решения данной проблемы необходимо получить и сохранить высококачественную спермопродукцию от маралов-рогачей. Для осуществления искусственного осеменения на первом этапе необходимо от высокопродуктивных маралов-рогачей получить качественную и чистую в бактериологическом отношении сперму, провести ее оценку, разбавление и криоконсервацию для создания банка семени. Сперму получали уретральным методом с помощью электроэякулятора Волоскова. Разбавление семени осуществляли с использованием лактозо-глицерино-желточной среды. Исследуемые пробы спермы были чисты по отношению к кампилобактериозу, трихомонозу, синегнойной палочке, анаэробной микрофлоре, БГКП. В ходе исследований установлено, что в разбавленной сперме маралов после криоконсервации наблюдается общая бактериологическая загрязненность от 10^3 до 10^5 и рост непатогенных грибов из рода *Penicillium* sp. от 2 до 4 колоний. Использование полученной спермы для проведения искусствен-

ного осеменения недопустимо. Для снижения бактериологической обсемененности необходимо добавлять санирующие препараты в разбавитель и качественно проводить туалет препуция у маралов.

Keywords: maral (*Cervus elaphus sibiricus*), artificial insemination, semen, liquid nitrogen, cryopreservation, bacteriological impurity, bacteriological study, mycologic study, prepuce, sanitizer, semen bank.

Artificial insemination is one of the ways to increase animal productivity. The lack of high-quality semen bank in the velvet antler deer industry prevents from performing artificial insemination in marals and thus leads to inefficient management of the industry in the field of breeding work. Artificial insemination may expand the selection-breeding work in the maral breeding industry through new breeds, types and groups of animals with high productivity and genetic potential. To solve this problem, high-quality semen from maral stags should be obtained and preserved. To implement artificial insemination in maral industry, at the first stage, it is necessary to obtain semen from highly productive maral stags, to evaluate it, dilute it and perform the cryopreservation for the purpose of creating a semen bank. Semen was obtained by urethral method by means of Voloskov electroejaculator. The semen was diluted by lactose-glycerin-egg yolk medium. The studied semen samples were pure regarding to campilobacteriosis, a trichomoniasis, *Pseudomonas Aureginosa*, anaerobic microflora and Coliform bacteria. It was found that after cryopreservation of diluted maral semen, the general bacterial content ranged from 10^3 to 10^5 , and the growth of nonpathogenic fungi of the genus *Penicillium* sp. was observed – from 2 to 4 colonies. The use of the obtained semen for artificial insemination is not admissible; to reduce the bacterial content, sanitizers should be added to the extender; maral prepuce should be properly sanitized.

Боранбаев Андрей Вячеславович, к.в.н., с.н.с., отдел «Всероссийский НИИ пантового оленеводства», Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий, г. Барнаул. Тел.: (3852) 50-13-40. E-mail: wniipo@rambler.ru.

Boranbayev Andrey Vyacheslavovich, Cand. Vet. Sci., Senior Staff Scientist, All-Russian Research Institute of Velvet Antler Deer Farming, Federal Altai Scientific Center of Agro-Biotechnologies, Barnaul. Ph.: (3852) 50-13-40. E-mail: wniipo@rambler.ru.

Введение

Известно, что искусственное осеменение в России у сельскохозяйственных животных применяется с 1899 г., в мараловодстве же более века ис-

пользуется естественное осеменение. Улучшение генетических и продуктивных качеств маралов в мараловодческих хозяйствах до настоящего времени осуществляется организацией гона (отбор

для спаривания высокопродуктивных животных), а в большинстве хозяйств из-за отсутствия между летними парками изгородей гон не организован. Все это ведет к малоэффективному ведению отрасли мараловодства в России. Искусственное осеменение является одним из способов оставаться конкурентоспособной отраслью на мировой арене промышленного оленеводства, а также позволит улучшать генетический потенциал и продуктивность отечественной популяции маралов.

Для осуществления искусственного осеменения маралов необходимо получить доброкачественную сперму по макро-, микроскопическим показателям, а также свободную от микрофлоры. Микробиологические показатели являются не основными в определении качества спермы, но в свою очередь имеют большое значение в обеспечении эффективности искусственного осеменения и выполнении требований биобезопасности [1]. По этой причине необходимы исследования бактериальной загрязненности и присутствия факультативных патогенных микроорганизмов в замороженной сперме. Сперма здоровых животных, полученная с соблюдением санитарно-гигиенических требований, не должна содержать микроорганизмов [2]. Одной из причин микробной контаминации спермы является несоблюдение санитарных норм и правил при отборе. Основными источниками загрязнения спермы являются: воздух случного манежа, волосяной покров животного, препуциальная полость и т.д. [3-5]. В свою очередь контаминация возможна через лабораторную посуду и инструменты, при разбавлении, эквilibрации и фасовке спермы [6].

По требованиям к сперме быков крупного рогатого скота сперму разделяют по количеству микробов на: незначительно загрязненную при содержании в 1 мл спермы до 0,1 тыс. микробов; слабозагрязненную – до 2 тыс. микробов в 1 мл; среднезагрязненную – до 5 тыс. микробов в 1 мл; сильнозагрязненную – более 5 тыс. микробов в 1 мл. Для искусственного осеменения допускают сперму с содержанием микробов не более 5 тыс. в 1 мл.

Цель исследования – определить микробиологическую загрязненность спермы маралов, отобранной в панторезном станке.

Материалы и методы

Взятие семени у маралов-рогачей проводили в одном из мараловодческих хозяйств Алтайского края в 2018 г.

Семя получали уретральным методом с помощью электроэякулятора Волоскова. Электроэякуляцию проводили на 4 рогачах, после их фиксации и проведения туалета препуция теплой водой (рис. 1).



Рис. 1. Зафиксированный марал в панторезном станке перед электроэякуляцией

Смоченный водой электрод вводили в прямую кишку маралу на глубину 22-24 см. Затем подавали ток 3-4 раза по 5 с с перерывом 10 с, при напряжении 6-8 В и сопротивлении в цепи 1000 Ом [7]. Выделяющуюся сперму собирали в стерильные полиэтиленовые одноразовые спермоприемники, после чего проводили его оценку (рис. 2) [8].



Рис. 2. Сперма в полиэтиленовом спермоприемнике

Объем определяли в мерных, стерильных, нагретых до 33°C, колбах; концентрация – в счетной камере Горяева согласно инструкции; подвижность – под микроскопом Микромед С-11;

цвет – визуально. После оценки семени производили ее разбавление с использованием лактозо-глицерино-желточной среды (ЛГЖ) без добавления санирующего препарата.

Разбавленное семя выдерживали при комнатной температуре 15-20 мин., затем помещали на 4-5 ч в бытовой холодильник для эквilibрации при 2-4°C. Далее разливали градуированной пипеткой в лунки фторопластовой пластины, охлажденной в жидком азоте, по 0,2 мл. Пластины со спермой выдерживали над поверхностью жидкого азота на расстоянии 5 см в течение 1,5-2 мин., а затем погружали ее в жидкий азот на 1-2 мин. После замораживания спермы пластины вынимали из жидкого азота, гранулы спермы собирали в контейнер и помещали в сосуд Дьюара [9].

Отбор проб спермы для бактериологического и микологического исследования проводили со-

гласно ГОСТ 32198-2013 [10]. Посевы биоматериала на общую бактериологическую обсемененность, кампилобактериоз, синегнойную палочку, анаэробы, кишечную палочку, трихомоноз осуществляли в лаборатории Алтайского краевого ветеринарного центра.

Результаты исследований

Отобранную, разбавленную и замороженную сперму подвергли бактериологическому и микологическому исследованию. Результаты отражены в таблице.

Во всех исследуемых пробах спермы наблюдается общая бактериологическая загрязненность от 10^3 до 10^5 и рост непатогенных грибов от 2 до 4 колоний. Исследования показали, что данные непатогенные грибы относятся к роду *Penicillium* sp. (рис. 3).

Таблица

Результаты бактериологических исследований разбавленной спермы марала после криоконсервации

Состав разбавителя	Бактериологические и микологические исследования						
	общая бак-загрязненность	кампило-бактериоз	трихо-моноз	синегнойная палочка	анаэробная микрофлора	грибы/ колонии	БГКП
ЛГЖ + сперма	10^4	-	-	-	-	+/3	-
ЛГЖ + сперма	10^5	-	-	-	-	+/4	-
ЛГЖ + сперма	10^3	-	-	-	-	+/2	-
ЛГЖ + сперма	10^4	-	-	-	-	+/3	-
ЛГЖ	-	-	-	-	-	-	-



Рис. 3. Рост грибов

По всем остальным исследуемым показателям (кампилобактериоз, трихомоноз, синегнойная палочка, анаэробная микрофлора, БГКП) получен отрицательный результат. Данные бактериологических и микологических исследований свидетельствуют о загрязненности проб спермы маралов, несмотря на предварительную обработку препуция у маралов и стерильность используемого разбавителя. Контаминация биоматериала

происходит в момент его сбора из внешней среды (панторезный станок).

Выводы

1. В разбавленной сперме маралов после криоконсервации наблюдается общая бактериологическая загрязненность от 10^3 до 10^5 и рост непатогенных грибов из рода *Penicillium* sp. от 2 до 4 колоний.

2. Использование полученной спермы для проведения искусственного осеменения недопустимо, для снижения бактериологической обсемененности необходимо добавлять санирующие препараты в разбавитель и качественно проводить туалет препуция у маралов.

Библиографический список

1. Radke H., Corbozl and Flukiger A. 9th European A.I. Vets Meeting, 1997. Neuchatel. Switzerland.
2. Иванов В.С. Совершенствование способа асептического взятия и обработки спермы хряков: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Воронеж, 1982. – 24 с.

3. Куклин А.Д. Изучение контаминации микроорганизмами спермы жеребцов при замораживании: автореф. дис. канд. биол. наук. – Харьков, 1973. – 24 с.

4. Malmgren L., Olsson E.E., Engvall A., Albin A. (1998). Aerobic bacterial flora of semen and stallion reproductive tract and its relation to fertility under field conditions. *Acta Vet. Scand.* Vol. 39 (2): 173-182.

5. Smole I., Thomann A., Frey J., Perreten V. (2010). Repression of common bull sperm flora and in vitro impairment of sperm motility with *Pseudomonas aeruginosa* introduced by contaminated lubricant. *Reprod. Domest. Anim.* Vol. 45 (4): 737-742.

6. Althouse G.C. (2008). Sanitary procedures for the production of extended semen. *Reprod. Domest. Anim.* Vol. 43 (Suppl. 2): 374-378.

7. Национальная технология замораживания и использования спермы племенных быков производителей. – М., 2008. – 159 с.

8. Методические указания по ветеринарно-санитарному контролю качества замороженной спермы быков-производителей. – М., 2003. – 10 с.

9. Инструкция по организации и технологии работы станций и предприятий по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных. – М., 1981. – 159 с.

10. ГОСТ 32198-2013 Средства воспроизводства. Сперма. Методы микробиологического анализа. – М.: Стандартинформ, 2014. – 30 с.

References

1. Radke H., Corbozl and Flukiger A. 9th European A.I. Vets Meeting, 1997. Neuchatel. Switzerland.

2. Ivanov V.S. Sovershenstvovanie sposoba asepticheskogo vzyatiya i obrabotki spermy khryakov: avtoref. dis. ... kand. vet. nauk. – Voronezh, 1982. – 24 s.

3. Kuklin A.D. Izuchenie kontaminatsii mikroorganizmami spermy zherebtsov pri zamorazhivani: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. – Kharkov, 1973. – 24 s.

4. Malmgren L., Olsson E.E., Engvall A., Albin A. (1998). Aerobic bacterial flora of semen and stallion reproductive tract and its relation to fertility under field conditions. *Acta Vet. Scand.* Vol. 39 (2): 173-182.

5. Smole I., Thomann A., Frey J., Perreten V. (2010). Repression of common bull sperm flora and in vitro impairment of sperm motility with *Pseudomonas aeruginosa* introduced by contaminated lubricant. *Reprod. Domest. Anim.* Vol. 45 (4): 737-742.

6. Althouse G.C. (2008). Sanitary procedures for the production of extended semen. *Reprod. Domest. Anim.* Vol. 43 (Suppl. 2): 374-378.

7. Natsionalnaya tekhnologiya zamorazhivaniya i ispolzovaniya spermy plemennykh bykov proizvoditeley. – М., 2008. – 159 s.

8. Metodicheskie ukazaniya po veterinarno-sanitarnomu kontrolyu kachestva zamorozhennoy spermy bykov-proizvoditeley. – М., 2003. – 10 s.

9. Instruksiya po organizatsii i tekhnologii raboty stantsiy i predpriyatij po iskustvennomu osemneniyu selskokhozyaystvennykh zhivotnykh. – М., 1981. – 159 s.

10. GOST 32198-2013 Sredstva vosproizvodstva. Sperma. Metody mikrobiologicheskogo analiza. – М.: Standartinform, 2014. – 30 s.



УДК 579.62

И.А. Функ, Е.Ф. Отт, Н.И. Владимиров
I.A. Funk, Ye.F. Ott, N.I. Vladimirov

ПОДБОР МИКРООРГАНИЗМОВ В СОСТАВ ПРОБИОТИКА ДЛЯ КОЗ

SELECTION OF MICROORGANISMS TO COMPOSE A PROBIOTIC FOR GOATS

Ключевые слова: козоводство, рациональное кормление, нормофлора, пробиотик, пропионовокислые бактерии, лактобактерии, активность кислотообразования, витамин B₁₂, антагонистическая активность, *Clostridium perfringens*.

Keywords: goat breeding, rational nutrition, normal flora, probiotic, propionic bacteria, lactobacilli, acid production activity, vitamin B₁₂, antagonistic activity, *Clostridium perfringens*.