

СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ШТУЧНОГО ОСІМЕНІННЯ СУК КРІОКОНСЕРВОВАНОЮ СПЕРМОЮ У РЕПРОДУКТОЛОГІЇ СОБАК

С. С. ДЕРКАЧ, доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології
відтворення тварин

Д. І. КРАВЦОВА, аспірант* кафедри акушерства, гінекології та
біотехнології відтворення тварин

**Національний університет біоресурсів і природокористування
України**

E-mail: darynakr93@gmail.com

Анотація. Використання кріоконсервованої сперми дасть можливість задовольнити потреби заводчиків тварин, які знаходяться на далекій відстані один від одного. Часто зустрічаються собаки з психологічними проблемами, які супроводжуються відмовою суки від пса, або ж агресивністю останнього, що унеможлиблює природню в'язку тварин. Саме тому штучне осіменіння має ряд переваг, серед яких не тільки згадане вище, а і можливість використання одного еякуляту для осіменіння декількох сук, обов'язкова оцінка якості сперми пса та не мало важливе на сьогоднішній час зменшення розповсюдження інфекційних захворювань шляхом відсутності природньої в'язки та додавання до розбавників антибіотиків.

У даній статті представлено короткий огляд стану та перспектив осіменіння сук заморожено-розмороженою спермою. Визначено роль штучного осіменіння у племінній роботі заводчиків собак, а також розглянуто методики і методи кріоконсервування сперми псів, які використовуються в Україні і світі. Проведений аналіз результатів досліджень науковців щодо замороження сперми та ефективності запліднення сук кріоконсервованою спермою.

Ключові слова: штучне осіменіння, кріоконсервована сперма псів, репродуктологія сук

Актуальність. Штучне осіменіння сук стає основним методом відтворення собак та використовується в різних країнах світу. Перший у світі дослід із штучного осіменіння собак був проведений в Італії ще в 1780 році, коли дослідник Абат Спалланцані ввів кілька крапель сперми пса в статеві шляхи суки, яка рівно через два місяці народила шість цуценят. Після цього ще декілька дослідників в різних куточках світу успішно повторювали цей експеримент. Тільки в середині ХХ століття особлива увага вчених зосереджується на дослідженні репродуктивної

* Науковий керівник – кандидат ветеринарних наук, доцент С.С. Деркач

© С. С. Деркач, Д. І. Кравцова, 2017

системи собак, а саме – регуляції їх розмноження [0]. На сьогоднішній день штучне осіменіння сук кріоконсервованою спермою не є широкодоступним та основним методом відтворення собак в Україні. В першу чергу, це пов'язано з досить малою кількістю спеціалістів та відсутністю вітчизняних методик з кріоконсервації сперми псів, які можуть задовольнити потребу заводчиків у розведенні собак. А основне – немає наукових підтверджень, що цуценята народились після осіменіння кріоконсервованою спермою.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Seager S. W. у 1969 році в США вперше заморозив сперму пса на основі лактозного розбавника в парах рідкого азоту і через декілька місяців зберігання, розморозив та осіменив суку, яка через 62 доби народила здорове потомство [0].

Американський вчений доктор Р. Фут провів численні досліди на собаках та розробляв рецептуру розбавників, призначених для кріоконсервування сперми [0].

У Європі перший дослідницький центр штучного осіменіння собак був створений у ветеринарному інституті м. Осло (Норвегія) на базі лабораторії професора К. Андерсена. Поштовхом до створення такого центру стали Скандинавські заводчики, які були дуже зацікавлені в імпорті сперми з метою збагачення генофондів та виведенню нових порід собак, але не могли цього досягнути внаслідок суворих санітарних карантинних вимог перетину кордону.

Ідея норвезьких ветеринарів почала розвиватися в європейських країнах і в 1981 році професор Ветеринарної школи Мезон Альфор та доктор Тере (Франція) отримав завдання Центрального Кінологічного суспільства і Міністерства сільського господарства почати дослідження щодо заморожування сперми псів та вдосконалення методик штучного осіменіння сук. У 1982 році вперше були отримані цуценята, що народилися в результаті штучного осіменіння заморожено-розмороженою спермою. А вже у 1988 році в Центрі досліджень проблем репродукції собак (CERCA) детально були з'ясовані основні аспекти штучного осіменіння сук, запропоновані методики і розроблені рекомендації для спеціалістів, деякі з яких використовуються і дотепер.

Мета дослідження. Метою роботи було вивчення сучасних тенденцій та перспектив штучного осіменіння сук кріоконсервованою спермою.

Матеріали і методи дослідження. Шляхом пошуку та аналізу літературних та інших інформаційних джерел з'ясувати стан та перспективи існуючих методів штучного осіменіння сук кріоконсервованою спермою.

Результати дослідження і їх обговорення. За штучного осіменіння собак сперма з допомогою спеціальних інструментів вводиться у репродуктивні органи суки. Від того, як була підготовлена до заморожування сперма та розморожена, залежить і спосіб осіменіння, а також його ефективність.

Цілком природно, що цей метод використовують, зазвичай, у розведенні високопородистих тварин і відповідальні та досвідчені заводчики ретельно підходять до вибору відповідних особин для парування. Немає сумнівів у тому, що штучне осіменіння має ряд потенційних переваг: дає можливість використовувати псів або сук, які не можуть природньо розмножуватися через анатомічні особливості; дозволяє розділити еякулят пса на декілька спермо-доз та осіменити декілька сук, тим самим збільшуючи приплід видатного пса; є прийнятним методом лінійного розведення та ефективним для генетичного поліпшення породи; забезпечує можливість постійного аналізу якості сперми пса-репродуктора. Застосування кріоконсервації сперми дозволить отримувати нащадків навіть після смерті пса та зберігати спермо-дози видатних псів у кріобанках необмежений час.

Кріоконсервування сперми має і ряд інших переваг щодо транспортування та доставки сперми в будь-який куточок світу, обходить стороною карантинні обмеження. Анулює необхідності у транспортуванні самої тварини, чим знижує ризики виникнення транспортного стресу та захворювань.

Для заводчиків службових псів, яких використовують для виявлення вибухонебезпечних та наркотичних речовин, або ж собаки-поводирі для сліпих людей та ін., заморожування сперми дозволить використовувати їх генетичний потенціал навіть після зниження їх репродуктивної функції. Необхідність утримувати багато псів-репродукторів в розплідниках знижується, що призводить до економії витрат на їх утримання та підвищує економічну ефективність закладу.

В Україні досить багато заводчиків, які займаються розведенням собак своєї улюбленої породи на некомерційній основі. Проте не секрет, що більшість власників високопродуктивних псів вбачають в розведенні економічний аспект, тобто розводять собак для продажу. Наявність допоміжних репродуктивних технологій, таких як штучне осіменіння дозволяє їм управляти своїми програмами із розведення та підвищувати коефіцієнт заплідненості для своїх найкращих сук. Цей метод запобігає зниженню кількості тварини у гнізді за народження. Також власники можуть застосовувати осіменіння і для тварин, які мають певні небажані фізичні недоліки та темперамент і є причиною неможливості природної в'язки. Але існують і певні недоліки використання штучного осіменіння – можна ненавмисно закріпити деякі небажані ознаки в межах породи, які матимуть негативний вплив на здоров'я тварин. Тому не можна допускати до розведення псів із генетичними порушеннями.

На противагу цьому, технологія може дозволити введення бажаних ознак і забезпечити збереження зникаючих порід, що є досить актуальним для заводчиків. У деяких випадках вибір штучного осіменіння є єдиним правильним рішенням. Наприклад, коли тварини для в'язки знаходяться за межами географічного регіону. Також цей метод дозволяє власникам

використовувати тих собак, які відмовляються від природньої в'язки, але здатні приводити здорове потомство.

Незважаючи на всі переваги такого методу відтворення, він має і певні недоліки: коли штучне осіменіння проводить некваліфікований спеціаліст ветеринарної медицини, внаслідок чого він не тільки може заподіяти травми статевих органів, а й на психологічному рівні травмувати тварину; коли рішення про штучне осіменіння обґрунтоване лише відмовою суки від природної в'язки, адже відсутність статевого потягу може бути наслідком патологічного стану тазостегнових суглобів або ж вродженими вадами статевих органів; можливість розповсюдження спадкових захворювань, наприклад, коли сука не допущена до розведення після її племінної оцінки, а власник про це не говорить, що в подальшому спонукає до «змішування крові» і неясності в походженні народжених тварин [0]. Доцільно встановити контроль і сертифікувати процес штучного осіменіння з надання відповідних ліцензій тільки спеціалістам, які пройшли відповідне навчання на державному рівні. А також обов'язковими у разі застосування штучного осіменіння повинні бути клінічні та генетичні дослідження щодо відсутності спадкових та інфекційних захворювань як псів, так і сук.

Центри з кріоконсервації сперми псів працюють в багатьох країнах світу і використовують майже однакові методи її заморожування, але водночас застосовують різноманітні синтетичні розбавники, в тому числі і захищені авторськими правами [0].

Методика кріоконсервації сперми передбачає спеціальну попередню підготовку статевих клітин та зберігання їх після заморожування у рідкому азоті. Термін придатності такої сперми за дотримання відповідних умов зберігання майже не обмежений. У разі застосування такої сперми за штучного осіменіння необхідно дотримуватись відповідних ветеринарних правил роботи із статевими клітинами, які піддавались кріоконсервації.

Сперму псів, зазвичай, заморожують та зберігають у вигляді поліпропіленових соломинок, об'ємом 0,25 мл. Це дає можливість проводити їх маркування даними про породу, кличку, дату взяття сперми у пса та хто проводив цей процес.

Відразу після отримання та оцінки сперми, еякулят розбавляють в 2-3 рази спеціальним розчинниками, що містять в своєму складі кріопротектори, які оберігають клітини від кристалізації та пошкоджень під час заморожування.

Розбавлення сперми може проводитись у один або два етапи. Якщо розбавлення проводять в два етапи, то першим кроком є змішування за кімнатної температури, а другий етап – це еквілібрація перед заморожуванням в умовах холодильника [0].

На сьогодні, найвідомішим буферним розчином для кріоконсервації сперми псів вважається TRIS (гідроксиметиламінометан). Також є дані про використання знежиреного молока під час заморожування сперми та

отримання результатів, близьких до таких за TRIS *in vitro*. Також до складу розбавників входять цукри, які підсилюють енергетичні процеси статевих клітин та підтримують осмотичний тиск і володіють кріозахисною активністю (Dobrinski et al., 1993). Найбільш часто використовують фруктозу, глюкозу та лактозу. Глюкоза і фруктоза метаболізуються статевими клітинами, але деякі (Ponglowharan et. Al., 2014) вчені стверджують, що фруктоза працює краще та впливає позитивно на рухливість сперміїв після розмороження.

Більшість середовищ для розбавлення сперми містить у своєму складі 10-20 % яєчного жовтка. За даними М. І. Єгорова (2001), концентрація різних поживних речовин в складі жовтка курячих яєць значно варіює залежно від стану курей та його свіжості і тому говорити про стандартний склад кріозахисного середовища не доводиться. Крім того, жовток гарне середовище для інкубування різного роду бактерій та може бути джерелом розвитку мікроорганізмів, тому статеві клітини після розмороження необхідно відмивати від нього, що, в свою чергу, спричиняє додаткові пошкодження сперміїв та знижує їх запліднювальну здатність. Останнім часом з'являються дані про попередні дослідження можливості заміни жовтка ліпопротеїдами низької щільності (ЛПНЩ). Вчені з Лабораторії біотехнології та репродуктивної патології Національної ветеринарної школи Нанта у Франції стверджують, що 6 % ЛПНЩ можуть ефективно замінити жовток (Bencharif et al., 2013) [0]. Було експериментально підтверджено та доведено, що ЛПНЩ забезпечують кращий захист сперміїв у процесі заморожування та після розморожування, вищу рухливість сперміїв в порівнянні із середовищем, яке містить 20 % курячого жовтка та не знижують їх запліднювальну здатність.

Всі кріопротектори за своєю дією поділяються на 2 групи: проникаючі і непроникаючі у клітину. До проникаючих кріопротекторів відносяться такі речовини, як гліцерин і етилен-гліцерин, вони мають здатність проникати через клітинну мембрану. Непроникаючі кріопротектори – це лактоза та протеїни, які не здатні проникнути через клітинну мембрану спермія [0].

Важливим етапом у технології кріоконсервації є процес еквілібрації сперми в кріозахисному середовищі, у результаті чого відбувається дегідратація клітин непроникаючим кріопротектором, або ж заміщення частини внутрішньоклітинної води проникаючим. Це дозволяє клітинам виробити вищий ступінь резистентності до температурного шоку асоційованого із заморожуванням .

Заключним етапом заморожування сперми є занурення соломинок або гранул в рідкий азот за температури -196 С°. Подальше зберігання такої сперми в посудині Дьюара дає можливість статевим клітинам зберігати їх біологічну повноцінність впродовж багатьох років.

Перед осіменінням суки сперму відтаюють або розморожують. Існує два способи розморожування соломинок – швидке або повільне. Швидке

розморожування полягає в тому, що соломинка чи гранула зі спермою поміщається на водяну баню за температури 37 ° С протягом 30 с, а повільне – за температури 70 ° С протягом 8 с.

Квичко І. Л. у своїй роботі стверджує, що відтаювання сперми собак за підвищених температурах (60-80 °С) сприяє кращій активності сперміїв та підвищує їх виживаємість.

Але використання такої сперми для осіменіння сук впливає на їх запліднюваність та накладає відбиток на всю технологію кріоконсервації, включаючи якість отриманого еякуляту, склад синтетичного середовища для розбавлення, спосіб розмороження, кількості біологічно повноцінних сперміїв в дозі після розмороження, оптимальний час осіменіння, техніку осіменіння і місце введення сперми в статеві шляхи суки [0]. Оскільки в процесі заморожування та розморожування може руйнуватись до 50 % статевих клітин, то спермо-дозу рекомендують вводити безпосередньо в матку, що забезпечує близько 70 % заплідненості сук [0].

Висновки та перспективи. Отже, на даний час в Україні ми не знайшли науково підтверджених даних щодо осіменіння сук кріоконсервованою спермою. Тільки починають використовувати осіменіння сук свіжою отриманою, нерозбавленою спермою, яку, зазвичай, отримують від пса у присутності суки, підготованої до осіменіння.

Цей метод розведення собак тільки починає набувати популярності серед заводчиків. Хоча перспективи використання штучного осіменіння собак в нашій державі досить широкі та необмежені, що дасть можливість отримувати нащадків від найкращих та найцінніших представників породи чемпіонів та володарів різноманітних світових та Європейських титулів.

Штучне осіменіння сук кріоконсервованою спермою – визнаний метод та має широке практичне застосування в США та деяких країнах Європи. Тому нашим науковцям слід переймати світові знання та запроваджувати в повсякденну практику свої наукові розробки. Першим завданням ветеринарних спеціалістів України разом з Кінологічними Союзами законодавчо прописати застосування штучного осіменіння сук як додаткового методу покращення популяції високопородних собак, сертифікувати технологію штучного осіменіння сук та створити державні центри репродукції собак з кріобанками сперми видатних псів, розробити нормативну базу де будуть чітко прописані права та обов'язки замовника та виконавця даних послуг. Корисним буде створити на спеціалізованих кафедрах факультетів ветеринарної медицини відповідні курси підвищення кваліфікації щодо осіменіння сук, що передбачає розробку програми та виділення державного фінансування для посилення досліджень щодо заморожування сперми псів та розробки нових підходів до осіменіння сук.

Список використаних джерел

1. Деркач, С. С. Минуте та сьогодення розвитку штучного осіменіння сук у світі / С. С. Деркач, Я. В. Любецький // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природоко- ристування України. – 2009. – № 136. – С. 188–195.

2. Andersen, K. Fertility of frozen dog semen. Acta Vet Scand. 1972;13:128–130.
3. Farstad, W. Semen cryopreservation in dogs and foxes. Anim Reprod Sci. 1996;42:251–260.
4. Foote, R. H. 1981. The artificial insemination industry. In: B. G. Brackett, G. E. Seidel, Jr., and S. M. Seidel (ed.) New Technologies in Animal Breeding. pp 13–39. Academic Press, New York.
5. Linde-Forsberg, C., Ström Holst, B., Govette, G. Comparison of fertility data from vaginal vs. uterine insemination of frozen thawed dog semen. A retrospective study. Theriogenology. 1999;52:11–23.
6. Linde-Forsberg. Recent advances in small animal reproduction. International Veterinary Information Service, Ithaca, NY; 2003
7. R. Belala, Effect of equilibration time on the motility and functional integrity of canine spermatozoa frozen in three different extenders/R. Belala, L. Briand-Amirat, L. Vinciguerra et al // Research in Veterinary Science journal.- June 2016-#106.- Pages 66–73.
8. Seager, S. W. J. Successful pregnancies utilizing frozen dog semen. /S. W. J Seager, A. I. Digest. – 1969. – Vol. 17. – C. 6–7.

References

1. Derkach, S. S. Liubetskyi, Ia. V. (2009). Mynule ta sohodennia rozvytku shtuchnoho osimeninnia suk u sviti [Past and present development of artificial insemination of bitch in the world]. Naukovi visnyk Natsional noho universytetu bioresursiv i pryrodoko- rystuvannia Ukrainy, 136, 188–195.
2. Andersen, K. (1972). Fertility of frozen dog semen. Acta Vet. Scand, 13, 128–130.
3. Farstad, W. (1996). Semen cryopreservation in dogs and foxes. Anim Reprod Sci, 42, 251–260.
4. Foote, R. H., Brackett, G. E. Seidel, Jr. (1981). The artificial insemination industry. New Technologies in Animal Breeding. Academic Press, New York, 13–39.
5. Linde-Forsberg, C., Ström Holst, B., Govette, G. (1999). Comparison of fertility data from vaginal vs. uterine insemination of frozen thawed dog semen. A retrospective study. Theriogenology, 52, 11–23.
6. Linde-Forsberg, (2003). Recent advances in small animal reproduction. International Veterinary Information Service, Ithaca, NY, 206.
7. Belala, R., Briand-Amirat, L., Vinciguerra, L. (2016). Effect of equilibration time on the motility and functional integrity of canine spermatozoa frozen in three different extenders. Research in Veterinary Science journal, 106, 66–73.
8. Seager, S. W. J (1969). Successful pregnancies utilizing frozen dog semen. Digest, 17, 6–7.

СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ СУК КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ СПЕРМОЙ В РЕПРОДУКТОЛОГИИ СОБАК

С. С. Деркач, Д. И. Кравцова

***Аннотация.** На сегодняшний день искусственное осеменение сук с помощью криоконсервированной спермы кобелей не является широкодоступным и широко используемым методом в*

репродуктологии собак. В Украине достаточно малое количество специалистов, которые могут удовлетворить потребность заводчиков в разведении животных, которые находятся на большом расстоянии друг от друга, владеют животными с психологическими (отказ самки от самца) или другие проблемами, обуславливающими невозможность естественной вязки животных.

Искусственное осеменение имеет ряд преимуществ, среди которых: возможность использования одного эякулята для осеменения нескольких сук; проверка качества спермы пса; возможность контроля наличия инфекционных заболеваний; проверка спермы с последующей ее обработкой и подготовкой к оплодотворению; отсутствие физического контакта и многие другие.

В данной статье представлен краткий обзор истории осеменения собак заморожено-размороженной спермой. Определена роль искусственного осеменения в племенной работе заводчиков собак, а также рассмотрены методики и методы криоконсервирования спермы для искусственного осеменения сук, используемые в Украине и мире. Приведены результаты других исследователей и определена эффективность оплодотворения при осеменении криоконсервированной спермой.

Ключевые слова: искусственное осеменение, криоконсервированная сперма, репродуктология мелких животных

CONDITION AND PROSPECTS OF ARTIFICIAL INSEMINATION WITH CRYOPRESERVED SEMEN IN CANINE REPRODUCTOLOGY

S. S. Derkach, D. I. Kravtsova

Abstract. Nowadays, artificial insemination of females with cryopreserved sperm is not widely available and used method in Canine reproductology. Artificial insemination (AI) in the dog is commonly practiced when the female does not accept breeding by a specific male, when a male cannot mount due to physical problems (vertebral column disease, hind leg disease, excessive panting in brachicephalic breeds etc.), or when male and female live far apart and cannot travel. There are fairly small number of specialists who can meet the need of breeders for breeding animals. Artificial insemination has several advantages, among which: a) the possibility of using one ejaculate for insemination of several bitches; b) quality control of the sperm of the dog; c) allows to control the presence of infectious diseases by preventing physical contact and testing of sperm with subsequent treatment for fertilization, and many others.

This article presents a brief overview of the history of insemination of dogs with frozen-thawed sperm. The role of artificial insemination in pedigree work of breeders of dogs is determined, and also what methods of cryopreservation of sperm for artificial insemination of females are used in

Ukraine and in the world. The results of other researchers and the efficiency of fertilization are determined during insemination with cryopreserved sperm are also presents in this article.

Keywords: *artificial insemination, cryopreserved sperm, reproduction of small animals*

УДК 636.2.09:618.19-002:615.3

КОМПЛЕКСНЕ ЛІКУВАННЯ КОРІВ ЗА СУБКЛІНІЧНОГО МАСТИТУ З ВИКОРИСТАННЯМ ПРЕПАРАТУ МАСТИЛІН

Ю. В. ЖУК, кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин

В. П. СУХОНОС, доктор ветеринарних наук, професор кафедри хірургії ім. акад. І. О. Поваженка

О. М. ШТЕПЛЮК, магістр*

**Національний університет біоресурсів і природокористування
України**

E-mail: zhuk_yv@nubip.edu.ua

Анотація. У статті наведено результати власних досліджень щодо вивчення терапевтичної ефективності комплексного лікування корів за субклінічного маститу з використанням препарату Мастилін.

Проведений аналіз поширення маститу серед корів у дослідному господарстві показав, що захворюваність на мастит становила в середньому 32,9 %, при цьому субклінічна форма реєструвалась у 25,9 % тварин. Слід зауважити, що саме субклінічну форма діагностовано у 3,0-3,4 рази частіше порівняно клінічними формами.

Встановлено, що комплексне застосування препаратів Мастилін і Катовіл за лікування корів за субклінічного маститу мало на 20 % вищу терапевтичну ефективність порівняно із тваринами, яким застосовували лише внутрішньоцистернальне введення препарату Мастилін.

Проведення експрес-методу дослідження секрету молочної залози з використанням реактиву Profilac Reagent N показав у всіх корів першої дослідної групи негативний результат. Середня тривалість лікування тварин групи склала $3,1 \pm 0,6$ діб, що на 1,1 доби менше, ніж за використання препарату Мастилін як монотерапії.

Ключові слова: *корови, субклінічний мастит, Мастилін, наночастки срібла, прополіс, Катовіл*

* Науковий керівник – кандидат ветеринарних наук, доцент Ю.В. Жук

© Ю. В. ЖУК, В. П. СУХОНОС, О. М. ШТЕПЛЮК, 2017