



005010241

*ИИИ*

**ЖВАКИНА Анна Рудольфовна**

**ИСКУССТВЕННОЕ ОСЕМЕНЕНИЕ И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ СЕМЕНИ  
ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ И РАЦИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ЛИСИЦ И ПЕСЦОВ**

06.02.09 - звероводство и охотоведение

9 ФЕВ 2012

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата биологических наук

пос. Родники Московской обл.- 2012

Работа выполнена в ГНУ Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева Российской академии сельскохозяйственных наук

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, член-корр. РАСХН,  
**Багиров Вугар Алиниз оглы**

**Официальные оппоненты:** доктор сельскохозяйственных наук, профессор  
**Блохин Геннадий Иванович**

доктор сельскохозяйственных наук, профессор  
**Шумилина Наталья Николаевна**

**Ведущая организация:** ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела

Защита состоится 6 марта 2012 года в 12 часов на заседании диссертационного совета Д 006.047.01 при ГНУ НИИ пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева Россельхозакадемии по адресу: 140143, Московская область, Раменский р-н, п. Родники, ул. Трудовая, д. 6.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ НИИПЗ Россельхозакадемии.

Автореферат разослан «2» февраля 2012 г.

Учёный секретарь диссертационного совета  
кандидат сельскохозяйственных наук



Н.Н.Лоенко

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Современные достижения биотехнологии позволяют эффективно сохранять и рационально использовать генетические ресурсы животных. Криоконсервация семени и создание криоколлекции является надежным методом сохранения генетических ресурсов животных (Эрнст Л.К. 2004, Кленовицкий П.М., Багиров В.А., 2004).

Доминирующую роль играет активный метод сохранения генофонда путем его использования в селекционном процессе для создания новых высокоэффективных форм, отвечающих требованиям времени и несущих в себе наследственные задатки исходных форм, позволяет на основе генетических механизмов сохранять и совершенствовать генные комплексы бесконечно долго (Багиров В.А., 2010).

В последние годы в зверохозяйствах России произошло резкое сокращение поголовья лисиц и песцов. По данным Центра информационного обеспечения племенного звероводства и кролиководства ГНУ НИИПЗК Россельхозакадемии за 2006-2010 гг. численность лисиц уменьшилась на 47,3%, песцов – на 63,7 %. Динамику поголовья определяет спрос на пушном рынке.

В связи с этим возникла острая необходимость в сохранении и рациональном использовании генетических ресурсов пушных зверей. Решить эту задачу возможно путём применения искусственного осеменения, криоконсервации семени, создания криобанка генетического материала производителей различных типов и окрасок, с последующим их использованием.

В настоящее время в Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию (2006), официально зарегистрированы 4 породы (серебристо-чёрная, бургундская, жемчужная, коликотт) и 7 типов лисиц (арктический мрамор, бирюлинский, красная рошинская, огнёвка вятская, платиновая, пушкинский, снежная), а также 2 породы (вуалева, серебристая) и 4 типа песцов (кольский, пушкинский, раисинский, родниковский тень).

Существует также несколько цветовых типов лисиц и песцов, разводимых в зверохозяйствах России, в том числе зарубежной селекции, в настоящее время не зарегистрированных в Государственном реестре, но представляющих интерес с точки зрения оригинальности окраски.

Искусственное осеменение в пушном звероводстве является инструментом для ускоренного получения лисиц, песцов, и лисо-песцовых гибридов тех окрасок, размеров и типов которые планирует селекционер в соответствии с требованиями рынка, тогда как при естественном покрытии это не всегда возможно. Искусственное осеменение свежим и заморожено-

102

оттаянным семенем позволяет рационально использовать ресурсы высокоценных производителей за счёт увеличения уровня полигамии.

Кроме того, создание криобанка семени от выдающихся самцов разных типов и окрасок позволяет в любой момент осеменять самок спермой нужных самцов. Это обеспечивает эффективное решение проблем, связанных с распространением ценных генотипов, дает возможность управлять селекционным процессом.

Повысить репродуктивные качества при внедрении искусственного осеменения можно за счёт усовершенствования техники осеменения, выявления и применения оптимального разбавителя для свежеполученного семени, на основе данных о биологической полноценности сперматозоидов.

Учитывая нестабильность рынка пушнины и сокращения поголовья и цветового ассортимента пушных зверей, возникла необходимость сохранения и рационального использованию генетических ресурсов лисиц и песцов.

**Цель и задачи исследований.** Цель работы - разработка и усовершенствование биотехнологических методов сохранения и рационального использования генетических ресурсов лисиц и песцов.

Для достижения поставленной цели было необходимо решить следующие задачи:

- изучить биологическую полноценность сперматозоидов свежеполученного и разбавленного семени; до и после криоконсервации;
- изучить влияние различных сред для разбавления семени на результаты осеменения, репродуктивные показатели самок и выявить оптимальную среду;
- провести сравнительный анализ результатов размножения лисиц при искусственном осеменении и естественном покрытии;
- усовершенствовать метод криоконсервации семени лисиц и песцов;
- создать криобанк семени лисиц и песцов различных типов и окрасок;
- изучить возможность получения потомства от осеменения самок заморожено- оттаянным семенем длительного хранения;
- изучить влияние гормональной обработки самок лисиц и песцов на их репродуктивные показатели;
- установить экономический эффект внедрения искусственного осеменения.

**Научная новизна исследований.** В результате проведенной работы выявлена оптимальная среда для разбавления свежеполученного семени, разработаны метод замораживания-оттаивания и среда для криоконсервации семени лисиц и песцов. Впервые получено потомство от осеменения самок лисиц и песцов охлаждённым транспортированным семенем и заморожено-оттаянным семенем длительного хранения. Доказана целесообразность гормональной обработки самок лисиц и песцов для улучшения их

репродуктивных качеств. Впервые в России создана уникальная криоколлекция семени самцов лисиц и песцов различных окрасок и типов.

#### **Практическая значимость работы.**

Разработаны биотехнологические мероприятия, позволяющие рационально использовать генетические ресурсы лисиц и песцов, ускорить селекционный процесс и получать необходимые цветковые формы и типы лисиц, песцов, лисо-песцовых гибридов. Создан криобанк семени самцов лисиц и песцов различных окрасок. Разработаны и предложены оптимальная среда для разбавления семени лисиц и песцов, повышающая воспроизводительную способность самок при искусственном осеменении и биотехнологические методы регуляции репродуктивной функции (гормональная обработка самок) лисиц и песцов позволяющие снизить долю прохолостевших самок, и повысить их оплодотворяемость и плодовитость.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- эффективность применения метода искусственного осеменения для ускорения селекционного процесса, в частности, расширения цветкового ассортимента лисиц, песцов, получения лисо-песцовых гибридов;
- оптимальные среды для разбавления свежеполученного семени, замораживания- оттаивания семени;
- транспортировка охлаждённого семени;
- эффективность сохранения генетических ресурсов лисиц и песцов путём создания криобанка семени;
- получение потомства от самок лисиц и песцов, осеменённых заморожено-оттаянным семенем после продолжительного хранения;
- применение гормональной обработки самок лисиц и песцов для улучшения их репродуктивной функции.

**Апробация работы.** Результаты исследований доложены и обсуждены на заседаниях Учёного совета, конференциях молодых учёных в ГНУ НИИПЗК Россельхозакадемии (2008, 2009, 2011), на курсах повышения квалификации зоотехников и ветеринарных врачей (2011, 2012).

**Публикации.** По теме диссертации опубликованы четыре работы, в том числе две статьи в изданиях, рекомендованных ВАК.

#### **Структура и объём диссертации.**

Диссертация изложена на 122 страницах компьютерного текста и включает введение, обзор литературы, материал и методы исследований, собственные исследования, обсуждение результатов исследований, выводы, рекомендации производству, сведения о практическом использовании полученных результатов, список использованной литературы, приложения. Работа иллюстрирована 30 таблицами, 8 рисунками. Список литературы включает 105 источников, в том числе 26 иностранных.

## **2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **2.1 Практическая база исследований и схема экспериментов**

Исследования проведены на базе лисо-песцовой фермы ОАО «Племзавод «Пушкинский»» в период 2006-2010гг. (рис.1). Кормление, содержание и уход за подопытным поголовьем соответствовали типовой технологии. Всего в научно-производственных опытах были осеменены искусственно 2044 самки лисиц и 1260 самок песцов. При этом использовано 109 самцов лисицы и 71 самец песца. Для осеменения использовали производителей, завезенных из Финляндии в 2005 г.

С целью выявления оптимального разбавителя семени было проведено 2 опыта. В соответствии с количеством сред, испытываемых в каждом опыте, были сформированы 6 и 2 группы самок лисиц - аналогов по возрасту и окрасу.

Критериями для выявления оптимального разбавителя семени служили показатели воспроизводства - доля благополучно оценившихся самок, плодовитость и выход щенков на самку.

Была испытана возможность транспортировки охлаждённого семени. Таким семенем было осеменено 12 самок серебристо-чёрной лисицы. Взятие семени проводили в день осеменения в племзаводе «Салтыковский», оценивали его по качеству, разбавляли глюкозо-цитратно-желточной средой, помещали в тару с хладагентом. При температуре от 0 до +4° С в течение нескольких часов семя доставляли в хозяйство и в соответствии с инструкцией проводили оценку по качеству и осеменение животных.

Взятие семени для создания криобанка осуществляли в соответствии с режимом, обеспечивающим оптимальное использование самцов.

Оплодотворяющую способность сперматозоидов лисиц и песцов после замораживания-оттаивания определяли по результатам искусственного осеменения и щенения самок.

### **2.2 Оборудование и инструментарий**

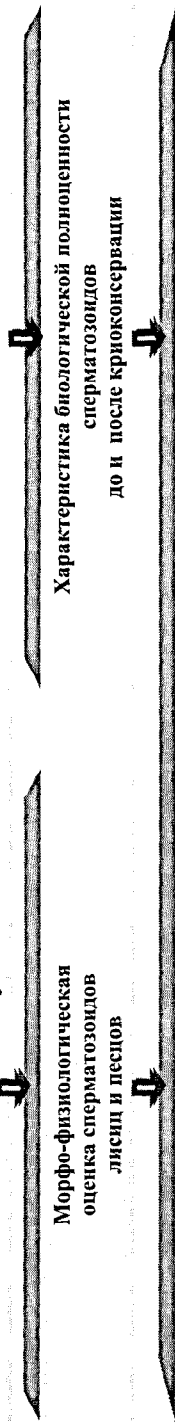
Взятие семени у самцов, оценку его качества, разбавление, осеменение самок проводили в специально оборудованном помещении. Использовали следующее оборудование: микроскоп, дистиллятор, стерилизатор, предметные и покровные стекла, одноразовые шприцы 5 и 10 мл, колбы для приготовления синтетических сред, салфетки, водяная баня, метиленовую синь для окрашивания мазков, сушильный шкаф и термостол, металлические катетеры длиной 24 см с закругленными краями и внутренним диаметром

## Репродуктивные методы сохранения и рационального использования генетических ресурсов лисиц и песцов



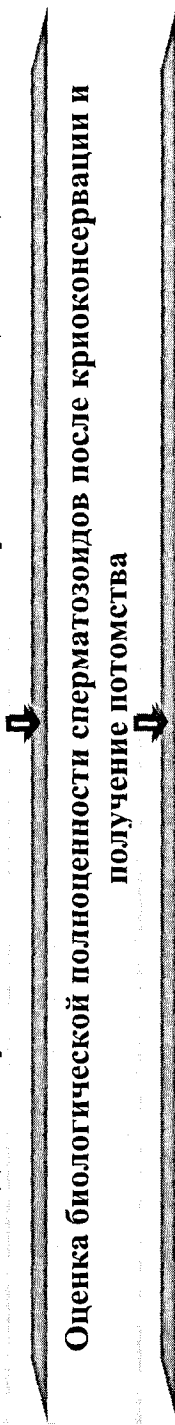
Методы сохранения и рационального использования генетических ресурсов лисиц и песцов

## Оценка биологической полноценности свежеполученного семени и результаты искусственного осеменения лисиц и песцов



Характеристика биологической полноценности сперматозоидов до и после криоконсервации

## Создание криобанка генетического материала лисиц и песцов



## Гормональная регуляция половой функции самок лисиц и песцов

Рис.1 Схема исследований

1,2мм, пластмассовые направляющие трубки длиной 12 см с внутренним диаметром 3 мм и пробирки-спермоприемники.

Пушных зверей для проведения манипуляций фиксировали в специальном станке. Станок представляет собой две металлические опоры, между ними сетчатая основа, расположенная на таком уровне, чтоб удобно было проводить манипуляции со зверями. Самцов и самок брали щипцами за шею, щипцы закрепляли в станке, зверя ставили на сетчатый «стол» станка. У самок для удобства осеменения фиксировали хвост.

### **2.3 Технология взятия семени и его оценка**

Взятие семени у самцов проводили по методике разработанной И.Д.Старковым (1937) и модифицированной Fougner, J. и Aamdal J. (1973), путём мастурбирования и сбора эякулята в пластмассовый спермоприёмник. От каждого самца семя собирали по два дня подряд через 4-6 дней. Качество спермы самцов оценивали по общепринятой методике (Милованов В.К., 1962). При оценке эякулята учитывали: объём, подвижность, концентрацию и процент живых спермиев.

Разбавление семени проводили в зависимости от густоты эякулята. В среднем эякулят самца лисицы использовали на 4-5 самок, эякулят самца песца- на 6-7 самок.

### **2.4 Технология осеменения самок**

Осеменение проводили внутриматочным способом, с помощью специальных инструментов: пластмассовой направляющей трубки и металлического катетера по методике Fougner, J. и Aamdal J. (1973).

Период охоты у самок определяли следующими способами: 1) по состоянию половых петель; 2) по поведению самки в присутствии самца-пробника - «рефлекс неподвижности» (только у лисиц); 3) по состоянию влагалищных мазков по методу Чекаловой Т.М. (1984).

Основным критерием для осеменения был метод влагалищных мазков. Самок лисиц осеменяли два дня подряд на второй и третий дни охоты, а самок песцов на второй и четвёртый.

### **2.5 Технология криоконсервации семени**

Взятое для криоконсервации семя оценивали по качеству, затем разбавляли криопротективной средой, исследовали после разбавления. Далее семя, пригодное для криоконсервации, подвергали эквilibрации в холодильнике при температуре от 0 до +4° С в течение 3 час. По истечении периода эквilibрации замораживали на фторопластовой пластине. После замораживания по одной грануле от эякулята каждого самца оттаивали и исследовали его качеству. Семя, благополучно прошедшее криоконсервацию помещали в специально приготовленные контейнеры, отдельно по каждому



амцу с пометкой номера и окраса самца. При оттаивании семени использовали «сухой» метод.

Результаты искусственного осеменения свежеразбавленным и заморожено-оттаянным семенем оценивали по количеству благополучно щенившихся самок, плодовитости и выходу щенков на самку.

### **2.6 Гормональная обработка самок лисиц и песцов препаратом «Фоллимаг»**

Для изучения влияния гормональной регуляции репродуктивных качеств самок лисиц и песцов использовали препарат «Фоллимаг». В первом опыте исследовали влияние гормональной обработки на молодых самках лисиц. Из 104 молодых самок лисиц, не имевших признаков течки к концу она, опытная группа - 67 голов были инъецированы по 200 МЕ на голову оджоно. В контрольной группе было 37 самок.

Во втором опыте исследовали влияние гормональной обработки на молодых самках песцов. Из 42 самок, не имевших признаков течки к кончанию гона, были сформированы 2 группы: опыт - 32 головы и контроль 10 голов. Был проведен анализ доли самок, пришедших в течку и покрытых, еременных и благополучно оценившихся самок, плодовитости и выхода щенков на самку.

Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере с использованием стандартных прикладных программ.

## **3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **3.1 Искусственное осеменение как метод мультитиражирования цветового ассортимента лисиц и песцов**

Внедрение искусственного осеменения с использованием семени верей финской селекции позволило увеличить размер тела животных. По данным бонитировки в 2007 году 82,7% самок серебристо-чёрной лисицы имели 5 баллов и более за размер тела. В 2008 году самок с оценкой 5 баллов и более за размер стало больше на 15,4%. Среди самцов в 2007 году 96,7% имели 5 баллов и более за размер, в 2008 году - 100,0%.

Изменилось и процентное соотношение произведённых шкур лисиц по окраскам и качеству пушнины. До 2006г. основной объём произведённых шкур лисицы составляли серебристо-чёрные. Цветных шкур были единицы. Структура общего объёма шкур лисицы по годам представлена в табл. 1.

Таблица 1

Структура общего объёма произведённых шкурок лисицы по окрасам

Год	Серебристо-чёрные		Красные		Снежные		Цветные	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
2005	2706	78,8	348	10,1	379	11,1	-	-
2006*	2312	76,2	381	12,6	257	8,5	82	2,7
2007*	2218	65,4	866	25,5	151	4,4	159	4,7
2008*	2216	57,1	987	25,5	170	4,4	504	13,0
2009	1347	53,4	629	24,9	221	8,8	324	12,9

\*- искусственное осеменение

Из данных таблицы 1 видно, что в 2005г. 78,8% от общего объёма шкурок лисицы составляли серебристо-чёрные. К 2008г. за счёт сокращения доли серебристо-чёрных шкурок, доля красных шкурок составила 25,5%, а цветных шкурок стало – 13,0%. В группу красных шкурок входили шкурки красной финской лисицы, огнёвки вятской, полукровок финской и огнёвки, сиводушки, смоук, полукровки красной и огонь и лёд. А в группу цветных - шкурки лисиц: платиновой, арктический мрамор, бургундской, коликотт, санглоу, голд, беломордой, золотисто-платиновой, жемчужной. Таким образом, искусственное осеменение позволило в короткие сроки расширить цветовой ассортимент производимой пушнины.

Улучшилось также качество пушнины, соответствующие материалы представлены в табл. 2.

Повысился процент шкурок серебристо-чёрной лисицы 1 группы дефектов: в 2005г. он составлял - 17,2%, а в 2008г. уже 46,3%. При этом уменьшился процент 3 и 4 группы дефектов. По качеству шкурок красной лисицы и цветной наблюдается та же тенденция. Качество шкурок снежных лисиц оставалось на одном уровне. С использованием высокоценных производителей при искусственном осеменении удалось повысить качество произведённых шкурок лисицы.

## Качество шкурок лисиц по окраскам

Год	1 группа дефектов		2 группа дефектов		3 группа дефектов		4 группа дефектов	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
<b>Серебристо-чёрные</b>								
2005	441	17,2	1060	41,4	754	29,4	306	11,9
2006*	906	40,1	917	40,6	362	16,0	74	3,3
2007*	960	46,1	747	35,8	306	14,7	71	3,4
2008*	1007	46,3	858	39,4	286	13,1	26	1,2
2009	527	39,3	558	41,6	210	15,7	46	3,4
<b>Красные</b>								
2005	76	22,0	131	37,9	101	29,2	38	11,0
2006*	140	36,8	144	37,9	76	20,0	20	5,3
2007*	426	49,9	272	31,9	115	13,5	40	4,7
2008*	484	49,4	356	36,3	126	12,9	14	1,4
2009	240	38,2	256	40,8	103	16,4	29	4,6
<b>Снежные</b>								
2005	219	59,2	104	28,1	36	9,7	11	3,0
2006*	165	64,7	56	22,0	31	12,2	3	1,2
2007*	94	63,5	41	27,7	12	8,1	1	0,7
2008*	109	64,1	39	22,9	17	10,0	5	2,9
2009	142	65,1	61	28,0	13	6,0	2	0,9
<b>Цветные</b>								
2005	-	-	-	-	-	-	-	-
2006*	38	64,4	32	54,2	8	13,6	3	5,1
2007*	91	58,0	42	26,8	21	13,4	5	3,2
2008*	250	50,2	188	37,8	52	10,4	8	1,6
2009	177	55,3	94	29,4	41	12,8	8	2,5

\*- искусственное осеменение

### 3.2 Сравнительный анализ результатов размножения лисицы при искусственном осеменении и естественном покрытии в 2006-2008 гг.

В наших исследованиях в период гона 2006г. 54,2% самок лисиц были искусственно осеменены внутриматочным способом (табл. 3).

Таблица 3

Доля естественно покрытых и искусственно осеменённых самок лисиц

Год	Самок на 01.04.	Естественное покрытие		Искусственное осеменение	
		Количество самок	%	Количество самок	%
2006	900	412	45,8	488	54,2
2007	950	231	24,3	719	75,7
2008	1000	163	16,3	837	83,7

В последующие годы доля искусственно осеменённых самок возрастала и в 2008 составила 83,7%.

Результаты воспроизводства самок при искусственном осеменении и естественном покрытии представлены в табл. 4.

Таблица 4

Динамика воспроизводства самок лисиц в 2006-2008 гг.

Год	Вид осеменения	Количество самок, гол.	Бере- мен- ных, %	Благо- получно ощенив- шихся, %	Плодовитость, M±m	Выход щенков на основную самку, M±m
2006	Искусственное осеменение	488	70,1	66,8	5,31±0,003	3,4±0,03
	Естественное покрытие	412	91,7	89,3	6,43±0,004	5,5±0,004
	Всего по ферме	900	80,0	76,6	5,91±0,003	4,4±0,003
2007	Искусственное осеменение	719	82,2	79,7	5,2±0,004	4,1±0,003
	Естественное покрытие	231	87,4	84,8	6,7±0,05	5,4±0,06
	Всего по ферме	950	83,4	80,9	5,6±0,004	4,4±0,004
2008	Искусственное осеменение	837	87,0	83,6	5,5±0,004	4,3±0,003
	Естественное покрытие	163	90,1	83,4	6,4±0,07	5,1±0,07
	Всего по ферме	1000	87,5	80,9	5,7±0,003	4,4±0,003

Доля беременных самок при естественном покрытии в анализируемый период сохранялась практически на одном уровне с небольшими колебаниями (87,4% - 91,7%). При искусственном осеменении процент беременных самок повысился: с 70,1% в 2006г. до 87,0% в 2008г., последнее сопоставимо с результатами, полученными при естественном покрытии.

Количество благополучно оцененных самок, при естественном покрытии в течение анализируемых трёх лет снижалось и составило 89,3% в 2006г., в 2007г.- 84,8% и в 2008г.- 83,4%. При искусственном осеменении этот показатель возрастает: с 66,8% в 2006г., до 83,6% в 2008г. последнее значение сопоставимо с результатами, полученными при естественном покрытии.

Плодовитость при естественном покрытии варьирует от 6,4 до 6,7 щенков, а при искусственном осеменении в 2006г. она составила 5,3 щенка, в 2007г.- 5,2 и в 2008г.-5,5. Таким образом, отмечается рост плодовитости при искусственном осеменении лисиц. Выход щенков на самку также повышается при искусственном осеменении.

В целом, за три года внедрения метода внутриматочного осеменения лисиц показатели воспроизводства самок возросли. Это связано с усовершенствованием применяемой среды для разбавления семени, более точным определением времени осеменения самок, отбором лучших самцов.

### 3.3 Оценка качества семени

Оценка качества семени производителей имеет важное значение. К осеменению допускались только эякуляты с нормальной концентрацией, имеющие нормальный цвет, запах, консистенцию, без примесей, оцененные по подвижности сперматозоидов не ниже 0,7 баллов.

Качественные показатели свежеполученного семени серебристо-чёрных самцов лисиц финской селекции представлены в таблице 7.

Таблица 7

Качество свежеполученного семени лисиц, (n=47)

Время взятия спермы, мин.	Объём эякулята, мл	Подвижность, баллы	Концентрация, млн в 1 мл	% живых спермиев
2,9 $\pm$ 0,18	1,31 $\pm$ 0,01	0,81 $\pm$ 0,002	303 $\pm$ 3,7	88,4 $\pm$ 0,04

Результаты исследования по оценке свежеполученного семени свидетельствуют о его биологической полноценности и возможности использования для мультитиражирования.

Качественные показатели свежеполученного семени песцов по 60 эякулятам вуалевых самцов финской селекции представлены в таблице 8.

Таблица 8

Качество свежеполученного семени песцов, (n= 60)

Время взятия спермы, мин.	Объём эякулята, мл	Подвижность, баллы	Концентрация, млн в 1 мл	% живых спермиев
1,9 $\pm$ 0,16	2,2 $\pm$ 0,01	0,85 $\pm$ 0,001	453 $\pm$ 6,2	85,7 $\pm$ 0,03

Оценка свежеполученного семени песцов указывает на его биологическую полноценность и возможность для массового использования высокоценных самцов.

#### 3.4 Результаты применения различных разбавителей семени

В первом опыте нами испытано шесть сред: 1. глюкозо-цитратная, 2. глюкозо-цитратная с добавлением желтка куриного яйца, 3. питательная среда 199, 4. глюкозо-цитратная с питательной в соотношении 1:1, 5. глюкозо-цитратная с желтком и питательной средой 199 в соотношении 1:1, 6. пятиводный цитрат натрия (2,9%).

Результаты применения различных разбавителей семени представлены в табл. 9.

Таблица 9

Результаты размножения самок лисиц в зависимости от применяемых разбавителей семени (опыт 1)

№ группы	Осеменено самок	Беременных, %	Благополучно оцененных, %	Количество щенков		Плодовитость		Выход щенков из осеменённую самку	
				живых	мёртвых	lim	M±m	lim	M±m
1	74	89,2	85,1	322	14	1-10	5,33±0,03	0-10	4,35±0,03
2	216	89,8	88,4	1016	18	1-10	5,41±0,009**	0-10	4,70±0,008*
3	60	78,3	76,7	216	2	1-10	4,74±0,04	0-10	3,60±0,03
4	70	84,3	81,4	285	6	1-10	5,11±0,03	0-10	4,07±0,03
5	116	74,1	71,6	415	7	1-9	5,08±0,02	0-9	3,58±0,02
6	38	89,5	89,5	149	2	1-7	4,44±0,04	0-7	3,92±0,03

\*\* -  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$

Применение сред №№3, 4, 5 и 6 не обеспечило получения желаемых результатов воспроизводства самок.

При использовании среды 1 беременными стали 89,2%, благополучно оценилось 85,1% самок, плодовитость составила 5,33±0,03, выход - 4,35±0,03 щенка. Среда 1 была взята для дальнейших испытаний.

Наиболее высокие показатели воспроизводства были достигнуты у самок группы 2, в которой применяли глюкозо-цитратно-желточную среду. В этой группе доля беременных самок составила 89,8%, благополучно оценилось 88,4% лисиц. Плодовитость в среднем была равна 5,41±0,009, выход щенков на самку - 4,70±0,008, эти показатели были достоверно выше, чем в остальных группах ( $P < 0,01-0,001$ ).

Таким образом, по итогам щенения 2007г. нами были выявлены 2 лучшие среды для разбавления свежеполученного семени лисиц: 1-глюкозо-цитратная и 2-глюкозо-цитратная с добавлением желтка куриного яйца.

Результаты второго опыта по выявлению оптимального разбавителя семени представлены табл.10.

Таблица 10

Результаты размножения самок лисиц в зависимости от применяемых разбавителей семени (опыт 2)

№ груп-пы	Осе-ме-нено са-мок	Бере-мен-ных, %	Благопо-лучно оценив-шихся, %	Количество щенков		Плодовитость		Выход щенков на осеменённую самку	
				жи-вых	мёрт-вых	lim	M±m	lim	M±m
1	268	84,7	80,6	1071	25	1-10	5,07±0,008	0-10	4,0±0,007
2	374	90,9	86,1	1702	62	1-10	5,48±0,006***	0-10	4,55±0,005***

\*\*\*-P<0,001

Более высокие показатели размножения самок были получены при использовании глюкозо-цитратно-желточной среды (группа 2). В этой группе беременными стали 90,9% самок, благополучно оценились 86,1% самок, что сопоставимо с результатами естественного покрытия. Плодовитость и выход щенков на самку при использовании ГЦЖ среды достоверно больше, чем в группе 1 (P<0,001).

Следующий этап исследований изучение влияния разбавителей на биологическую полноценность сперматозоидов по оплодотворяющей способности и, соответственно, по показателям плодовитости и выхода щенков на взрослых самках, осеменённых свежеполученным семенем (табл.11).

Таблица 11

Результаты размножения взрослых самок лисиц в зависимости от разбавителей семени

№ груп-пы	Осе-ме-нено самок	Про-пус-товав-ших, %	Благопо-лучно оценив-шихся, %	Количество щенков		Плодовитость		Выход щенков на осеменённую самку	
				жи-вых	мёрт-вых	lim	M±m	lim	M±m
1	30	10,0	90,0	159	8	1-8	6,2±0,08	0-8	5,3±0,07
2	28	7,1	92,9	178	-	3-10	6,8±0,07***	0-10	6,3±0,06***
3	12	25,0	75,0	40	-	1-8	4,4±0,28	0-8	3,3±0,19
4	11	18,2	81,8	45	-	1-7	5,0±0,20	0-7	4,1±0,16
5	14	21,4	78,6	50	-	2-9	4,5±0,20	0-9	3,6±0,16
6	11	9,1	90,9	42	-	3-6	4,2±0,12	0-6	3,8±0,11

\*\*\*-P<0,001

Из данных таблицы 11 видно, что меньшее число пропустовавших самок в группе 2 - 7,1%, соответственно большее число благополучно родивших - 92,9%, показатели плодовитости и выхода щенков на самку достоверно выше по сравнению с таковыми первой группы ( $P < 0,001$ ).

Данные, полученные по результатам сравнения лучших сред представлены в табл. 12.

Таблица 12

Результаты размножения взрослых самок лисиц  
в зависимости от разбавителей семени

№ группы	Осеменено самок	Пропустовавших, %	Благополучно оцененных, %	Количество щенков		Плодовитость		Выход щенков на осеменённую самку	
				живых	мёртвых	lim	M±m	lim	M±m
1	17	11,8	82,4	69	1	2-7	5,0±0,11	2-7	4,1±0,08
2	58	8,6	87,9	318	5	3-9	6,3±0,03***	3-9	5,5±0,03***

\*\*\*- $P < 0,001$

Лучшие показатели получены в группе 2: процент благополучно оцененных самок составил 87,9%, плодовитость и выход щенков на самку были достоверно выше по сравнению с таковыми у самок группы 1 ( $P < 0,001$ ).

Следовательно, по результатам проведённых экспериментов нами была выявлена оптимальная среда для разбавления свежеполученного семени лисиц- глюкозо-цитратно-желточная.

### 3.5 Транспортировка охлажденного семени и осеменение им

В условиях звероводства нами был апробирован метод транспортировки охлажденного семени и осеменения им. Семя, разбавленное разными средами, оставляли в холодильнике при  $t=0 - +4^{\circ}\text{C}$ . Каждые 24 часа исследовали сперматозоиды на выживаемость, подвижность, оценивали характер движений. Самая лучшая выживаемость была отмечена в глюкозо-цитратно-желточной среде- 3 суток.

Охлаждённым семенем было осеменено 12 самок серебристо-чёрных лисиц, 3 из них пропустовали, а 9 (75,0%) благополучно оценились. Плодовитость в среднем составила  $4,45 \pm 0,37$  щенка.

Проведенные нами исследования показали возможность получения потомства от самок лисиц, осеменённых охлаждённой транспортированной спермой. Метод охлаждения семени можно использовать и для транспортировки на более дальние расстояния. Это позволяет в разы ускорить селекционный процесс, а также расширить разнообразие стада по окраскам, без покупки дорогостоящих самцов, приобретая охлаждённое семя.



### 3.6 Создание уникальной криоколлекции банка семени лисиц и песцов

Нами создана уникальная криоколлекция семени лисиц и песцов. Разработка метода глубокого замораживания семени состояла в создании криопротективной среды, пригодной для семени, полученного от самцов лисиц и песцов. Состав среды представлен в табл. 13.

Таблица 13

Состав среды для криоконсервации сперматозоидов лисиц и песцов

Ингредиенты	Химическая формула	Молекулярная масса	Количество вещества
Лактоза	$C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$	360,32	2,0 г
Лимонная кислота	$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$	192,1	1,4 г
Трис	$C_4H_{11}NO_3$	121,1	2,5 г
Глицерин	$C_3H_8O_3$	92,09	3,0 мл
ДМСО	$C_2H_6SO$	78,13	1,0 мл
Вода дионизированная	$H_2O$	18	100 мл
Желток куриного яйца			10,0 мл
pH среды 7,05			

Нами были выявлены оптимальные режимы замораживания-оттаивания семени и разработана криопротективная среда. Результаты применения среды показали, что она обеспечивает оптимальные условия для сохранения биологической полноценности заморожено-оттаянного семени лисиц и песцов.

Результаты изучения качественных показателей семени до и после криоконсервации приведены в табл. 14.

Таблица 14

Характеристика семени лисиц на разных этапах криоконсервации

Этапы криоконсервации	Подвижность, баллы	%, живых спермиев
Свежеполученное семя	$0,81 \pm 0,002$	$88,4 \pm 0,04$
После разбавления	$0,77 \pm 0,001$	$85,0 \pm 0,03$
После эквilibрации	$0,71 \pm 0,01$	$83,6 \pm 0,04$
После оттаивания	$0,65 \pm 0,003$	$68 \pm 0,04$

Установлено, что после замораживания и хранения при температуре  $-196^{\circ}C$ , в оттаянной сперме подвижность в среднем составляла  $0,65 \pm 0,003$  балла. Проведенные исследования показали, что после замораживания-оттаивания сперматозоиды лисиц и песцов сохраняют свою биологическую

полноценность. Этот метод является надежным для сохранения генетических ресурсов в пушном звероводстве.

Нами было криоконсервировано семя самцов лисиц финской селекции следующих окрасок: красные, смоук, платиновые, арктический мрамор, огонь и лёд, беломордые; семя самцов лисиц российской селекции: серебристо-чёрные, огнёвка вятская, сиводушка, коликотт, снежные, жемчужные, бургундские, санглю; семя самцов песцов финской селекции следующих окрасок: вуалевых, шедоу, шедоу Каяна, полярных; семя самцов песцов вуалевых российской селекции. В настоящее время в криобанке сохраняется генетический материал 15 цветовых типов лисиц (2892 дозы) и 5 цветовых типов песцов (1424 дозы).

Получение и создание банка криоконсервированного семени является не только надежным методом сохранения генофонда пушных зверей, но и открывает перспективы для создания новых селекционных форм с высоким генетическим потенциалом и служит ускорению и управлению селекционным процессом.

### 3.7 Результаты осеменения заморожено-оттаянным семенем

Следующий этап научных исследований заключался в оценке эффективности использования криобиологических методов, как для сохранения редких и уникальных цветовых типов, так и селекционно-племенной работы в пушном звероводстве. С этой целью нами проведена серия опытов по осеменению лисиц и песцов криоконсервированным семенем по следующей схеме. Внутривидовое - самок лисиц осеменяли семенем самцов лисиц, а самок песцов семенем самцов песцов. Межвидовое - самок песцов осеменяли семенем самцов лисиц. Также проводили опыт по осеменению самок лисиц семенем самцов лисиц после длительного хранения в жидком азоте (табл. 15).

Таблица 15

Результаты осеменения самок лисиц заморожено-оттаянным семенем

Вариант размножения		Всего самок	Благополучно оцененных		Родилось щенков, гол.		Плодовитость	
Самки	Самца		кол-во	%	всего	живых	lim	M±m
Лисица	Лисица	15	7	46,7	31	30	2-7	4,4±0,27
Песец	Песец	15	2	13,3	11	9	1-9	5,5±0,5
Опыт по гибридизации								
Песец	Лисица	5	4	80,0	18	15	2-6	4,5±0,48
Осеменение семенем лисицы после 5-летнего хранения в жидком азоте								
Лисица	Лисица	3	1	33,3	3	3	3	3,0±0

Из 15 самок лисиц, осемененных заморожено-оттаянным семенем 7 (46,7%) благополучно оценились. Средняя плодовитость самок в этой

группе составила  $4,4 \pm 0,27$  щенка. У песцов благополучно оценились 2 самки (13,3%), а три абортировали, средняя плодовитость составила  $5,5 \pm 0,5$  щенка.

Из 5 самок песцов, осемененных оттаянным семенем лисиц, 4 (80%) оценились. В среднем при гибридизации плодовитость составила  $4,5 \pm 0,48$  щенка.

Нами был проведен уникальный эксперимент. Трёх самок лисиц осеменили семенем самца лисицы, хранившимся 5 лет в жидком азоте, 2 самки пропустовали, а одна (33,3%) принесла 3 живых щенка. Этот эксперимент свидетельствует о принципиальной возможности использования семени пушных зверей.

### 3.8 Повышение репродуктивной способности самок лисиц и песцов с помощью гормональной обработки

В связи с завозом в ОАО «Племзавод «Пушкинский» производителей и самок песцов и лисиц из Финляндии значительно увеличилась продолжительность периодов гона и щенения. В связи с тем, привезённые звери финской селекции характеризовались более поздними сроками течки и охоты. Возросла доля прохолостевших и пропустовавших самок, а также снизилась плодовитость в целом по стаду.

Возникла необходимость разработки репродуктивной технологии регуляции гона лисиц и песцов в более сжатые сроки в соответствии с природно-климатическими условиями средней полосы России, а также уменьшения доли прохолостевших самок и увеличения их плодовитости.

Для этих целей в наших исследованиях было изучено влияние гормональной регуляции у самок лисиц и песцов на их репродуктивные показатели. Использование гормонального стимулирования и поиски путей дальнейшего его совершенствования представляют значительный интерес, как в теоретическом, так и в практическом плане. Результаты гормональной регуляции молодых самок лисиц представлены в табл. 16.

Таблица 16

Результаты гормональной регуляции молодых самок лисиц

Группа	n	Пок-рыго, %	Из них бере-менных, %	Благопо-лучно оценив-шихся, %	Родилось щенков, гол.		Плодовитость	
					всего	живых	lim	M $\pm$ m
Опыт	67	97,0	73,1	67,2	255	244	1-9	$5,7 \pm 0,04^*$
Контроль	37	78,4	56,8	54,1	106	96	1-8	$5,3 \pm 0,17$

\*-  $P < 0,05$

По итогам щенения плодовитость обработанных самок достоверно выше, чем у контрольных:  $5,7 \pm 0,04$  - и  $5,3 \pm 0,17$ , соответственно ( $P < 0,05$ ).

Выход щенков в опытной группе достоверно выше -3,6, чем в контроле - 2,6 щенка ( $P<0,001$ ).

Результаты гормональной регуляции молодых самок песцов представлены в табл. 17.

Таблица 17

## Результаты гормональной регуляции молодых самок песца

Группа	n	Пок- рыто,%	Из них бере- менных,%	Благо- получно оценив- шихся,%	Родилось щенков, гол.		Плодовитость	
					всего	живых	lim	M±m
Опыт	32	87,5	89,3	78,6	249	231	1-18	11,3±0,24***
Контроль	10	90,0	66,7	55,6	44	40	4-14	8,8±0,72

\*\*\* $P<0,001$

Из данных таблицы видно, что 87,5% самок опытной группы пришли в течку и были покрыты. Беременными из них оказались 89,3% опытных самок, а в контрольной группе - 66,7%. Благополучно оценилось в опыте - 78,6%, в контроле - 55,6%. Плодовитость составила - 11,3 щенка - 8,8 соответственно ( $P<0,001$ ). Выход на стимулированную самку составил - 7,2 щенка, а в контрольной группе - 4,0 щенка ( $P<0,001$ ).

При использовании гормональной регуляции нам удалось решить проблему позднего гона и щенения, снизить процент прохолостения молодых самок, повысить плодовитость поздно приходящих в течку самок, тем самым улучшив репродуктивные качества стада лисиц и песцов. Использование данного метода позволяет значительно снизить затраты труда рабочих, получить экономическую выгоду. В дальнейшем возможно использование гормональной обработки для проведения гона в более сжатые сроки и увеличения плодовитости самок.

### 3.9 Экономическая эффективность внедрения искусственного осеменения

Теоретический расчёт, произведённый И.Д. Старковым (1937), показал, что при использовании искусственного осеменения на лисицах и песцах полигамия может возрасти до 1:50 - 1:100.

Мы провели расчёт экономической эффективности внедрения искусственного осеменения на поголовье в 1000 самок основного стада лисиц при полигамии 1:15 (табл. 18).

Таблица 18

Экономическая эффективность применения искусственного осеменения

Наименование показателей	Естественное покрытие, полигамия 1:5	Искусственное осеменение, полигамия 1:15
Поголовье самок основного стада	1000	1000
Поголовье самцов основного стада	200	67
Стоимость корма на 1 гол. самца в год, руб.	1460	1460
Стоимость корма на самцов в год, руб.	292000	97820
Прочие расходы на 1 гол. самца в год, руб.	150	150
Прочие расходы на самцов в год, руб.	30000	10050
Сумма расходов на самцов в год, руб.	322000	107870
Экономический эффект, %	-	66,5

Таким образом, внедрение искусственного осеменения позволяет сократить поголовье самцов и, в связи с этим, уменьшить затраты на их содержание. При полигамии 1:15 на лисицах экономический эффект от использования искусственного осеменения только за счёт сокращения самцов на 133 головы достигает 66,5%. Снижаются затраты на прокорм самцов на 214 тыс.руб. в год. Сокращение числа самцов позволяет увеличить поголовье самок и получаемое от них количество щенков. Дополнительный эффект может быть достигнут за счет гормональной регуляции.

Необходимо отметить, что сохранение и рациональное использование биоразнообразия пушных зверей путём создания криобанка генетического материала, с использованием новых репродуктивных технологий в условиях сокращения их поголовья имеет стратегическое значение.

#### 4. ВЫВОДЫ

1. Внутриматочный метод искусственного осеменения самок лисиц в сравнении с парацервикальным повышает долю беременных самок на 5,8%, нормально шенившихся самок на 12,6%, а плодовитость и выход на самку на 1 щенка ( $P < 0,05$ ).
2. Установлено, что для разбавления свежеполученного семени при внутриматочном способе осеменения лисиц оптимальной является глюкозо-цитратно-желточная среда, обеспечивающая биологическую полноценность сперматозоидов и способствующая получению 90,9% беременности самок, при средней плодовитости  $5,48 \pm 0,006$  щенка ( $P < 0,001$ ).
3. Показано, что охлажденное семя лисиц может быть использовано для его транспортировки на дальние расстояния. Осеменение самок лисиц охлаждённым семенем после его перевозки позволило получить полноценное потомство от 75% самок при средней плодовитости  $4,45 \pm 0,37$  щенка.
4. Модифицированная криопротективная среда позволила при внутривидовом осеменении самок лисиц и песцов получить долю беременных самок 46,7% и 13,3% при средней плодовитости  $4,4 \pm 0,27$  и  $5,5 \pm 0,5$  щенков, соответственно. От осеменения самок песца замороженно-оттаянным семенем лисицы получено 80,0% беременных, при средней плодовитости  $4,5 \pm 0,48$  щенка.
5. Установлено, что осеменение самок лисицы семенем после длительного хранения в жидком азоте, в течение 5 лет, доля беременных самок составила 33,3%, их плодовитость 3 щенка.
6. Гормональная регуляция половой функции молодых самок лисиц и песцов препаратом «Фоллимаг» в дозе 200 МЕ в конце гона способствует улучшению их репродуктивных качеств и обеспечивает достоверно большее количество беременных и благополучно оцененных самок со средней плодовитостью  $5,9 \pm 0,03$  ( $P < 0,01$ ) и  $11,3 \pm 0,24$  ( $P < 0,001$ ) щенка, соответственно.
7. Экономическая эффективность от использования искусственного осеменения за счёт сокращения затрат на содержание самцов достигает 66,5%.

## **5. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ НАУЧНЫХ ВЫВОДОВ**

1. Для мультитиражирования высокоценных генотипов лисиц и песцов, снижения затрат на содержание самцов, рекомендуем использовать внутриматочный способ искусственного осеменения с применением глюкозо-цитратно-желточной среды для разбавления свежеполученного семени, а так же транспортировку охлаждённого семени.
2. С целью повышения эффективности селекционно-племенной работы с поголовьем лисиц и песцов в зверохозяйствах использовать генетический материал криобанка.
3. Для улучшения репродуктивных качеств самок лисиц и песцов рекомендуем использовать препарат «Фоллимаг в дозе 200 МЕ на голову однократно.

## **6. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Жвакина А.Р., Репродуктивные технологии в звероводстве./ Жвакина А.Р., Багиров В.А., Кудрявцев В.Б.// Достижения науки и техники АПК.- 2011.- №12.- С.60- 62.
2. Сергеев Е.Г., Изменение породного состава и численности клеточных пушных зверей в хозяйствах России с 2006 по 2010г./ Сергеев Е.Г., Жвакина А.Р., Бекетов С.В.// Кролиководство и звероводство.- 2011.- № 6.- С. 10-13.
3. Сергеев Е.Г., Характеристика стад клеточных пушных зверей в зверохозяйствах Российской Федерации в 2009-2010гг./ Сергеев Е.Г., Фёдорова И.О., Жвакина А.Р.// Информационно- аналитический сборник.- (вып.11).- М.- 2010 г.- 174 с.
4. Сергеев Е.Г., Характеристика стад клеточных пушных зверей в зверохозяйствах Российской Федерации в 2010-2011гг./ Сергеев Е.Г., Жвакина А.Р., Федорова О.И.// Информационно- аналитический сборник.- (вып. 12) М.- 2011 – 176 с.

---

Подп. в печ. 02.02.2012. Формат 60x90/16. Объем 1,0 п.л.

Бумага офисная. Печать цифровая.

Тираж 100 экз. Заказ № 65

---

ФГБОУВПО «Государственный университет управления»  
Издательский дом ФГБОУВПО «ГУУ»  
109542, Москва, Рязанский проспект, 99, Учебный корпус, ауд. 106  
Тел./факс: (495) 371-95-10, e-mail: [diric@guu.ru](mailto:diric@guu.ru)  
[www.guu.ru](http://www.guu.ru)