8. Санина, О. Л. Биологическая роль церулоплазмينا и возможности его клинического применения. Обзор литературы / О. Л. Санина, Н. К. Бердинских // Вопр. мед. химии. - 1986. - Т. 32. - № 5 - С. 7-14.

9. Chartoriiskaia, A. V. The specificity of the acute phase proteins in dogs with various diseases of inflammatory origin / A. V. Chartoriiskaia // 23–24 ноября 2023 года. - Санкт-Петербург, 2023. – P. 470-472.

CONTENT OF CERULOPLASMIN AND FIBRINOGEN IN CATTLE WITH CATARRHAL MASTITIS

Oksana V. Kryachko, Dr. Habil. In Veterinary Sciences, prof., orcid.org/0000-0002-8996-8522

Arina V. Chartoriiskaia, PhD student, orcid.org/0009-0001-4614-0637

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Russia

Acute phase proteins are the main tool for assessing the nature of the inflammatory process, monitoring treatment and part of the indicator of the internal state of animals in diseases of various origins. One of the most famous in diagnostic practice is the determination of the content of fibrinogen in the blood. Determination of the level of ceruloplasmin in veterinary medicine for diagnostic purposes is not so common, but it is an important marker of inflammation in the body. The aim of the study is to determine the content of ceruloplasmin and fibrinogen in cattle with catarrhal mastitis. Studies were conducted in Holstein cows divided into two groups: 1st - clinically healthy animals (n = 20) and 2nd - with signs of catarrhal mastitis (n = 20). The amount of ceruloplasmin was determined by Ravin's method. Fibrinogen concentration was determined by the Rutberg method. As a result of studies, a significant increase in ceruloplasmin was found in animals of the second group 694.75 ± 98.88 mg/l compared to clinically healthy animals 426.56 ± 25.59 mg/l. The level of ceruloplasmin in mastitis was increased due to the fact that the mammary gland is one of the sources of ceruloplasmin production in the body, and leukocytes migrating to the focus of inflammation are also the source of this protein. Fibrinogen content in patients was 6.77 ± 0.9 g/l versus 3.55 ± 0.6 g/l in healthy patients. An increase of the fibrinogen in animals with catarrhal mastitis confirms that inflammation make disorders in the coagulation and anticoagulation systems of the blood towards an increased tendency to thrombosis. Thus, the determination of the contents of the acute phase proteins in blood, such as ceruloplasmin and fibrinogen, is an important diagnostic tool for assessing the state of the body, and also indicates the nature of the process in the body.

Key words: acute phase proteins, ceruloplasmin, fibrinogen, cattle, mastitis, inflammation.

REFERENCES

1. Voronina OA, Zaitsev SY, Savina AA, Kolesnik NS. Evaluation of the content of ceruloplasmin, copper and copper-coordinating amino acids in cow milk at different lactation periods. Agrarian science of the Euro-Northeast. 2023;24(6):1038-1048. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.6.1038-1048>
2. Kryachko, O. V. Approbation of the methodology for determining the concentration of plasma ceruloplasmin in dogs/O. V. Kryachko, A. V. Chartoriiskaia, //AIC - youth, science, innovation: Materials of the Student Scientific and Practical Conference, Grozny, May 16, 2024. - Grozny: Chechen State University named after Akhmat Abdulkhamidovich Kadyrov, 2024. - P. 22-26. – DOI 10.36684/123-1-2024-22-26. – EDN JWFNBL.
3. Kamyshnikov V.S. Handbook for Clinical and Biochemical Research and Laboratory Diagnostics. - Moscow: MEDpress-inform, 2009. - 896 p.
4. Letunovskaya A.V. Ceruloplasmin in breast pathologies of a non-inflammatory nature in females / A.V. Letunovskaya //European journal of biomedical and life sciences, no. 1, 2017, pp. 63-66.
5. Fundamentals of clinical veterinary hematology: a text-

- book for universities/S.P. Kovalev, A.V. Tuvardzhiev, V.A. Konoplev, R.M. Vasiliev. - 2nd edition, stereotypical. - St. Petersburg: Publishing house "Lan," 2023. - 120 p. - ISBN 978-5-507-47198-0. – EDN UYPBGR.
6. Pathological animal physiology. General nosology. Typical pathological processes/O. V. Kryachko, L. A. Lukyanova, V. N. Gaponova [et al.]. - St. Petersburg: St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 2022. – 151 p. – EDN OGAIQR.
7. Plemyashov K.V., Filatova A.V., Sandakchi D.N., Avdeenko V.S. Metabolic indicators in the diagnosis and prognosis of the course of subclinical and clinical mastitis in goats after lambing. Regulatory regulation in veterinary medicine. 2022;(4):72-77. <https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2022.4.72>
8. Sanina, O. L. Biological role of ceruloplasmin and possibilities of its clinical use. Literature review/O. L. Sanin, N. K. Berdinsky//Vopr. med. chemistry. - 1986. - Т. 32. - N 5 - P. 7-14.
9. Chartoriiskaia, A. V. The specificity of the acute phase proteins in dogs with various diseases of inflammatory origin / A. V. Chartoriiskaia //, November 23–24, 2023. - St. Petersburg, 2023. – P. 470-472. – EDN CCXSNX.

УДК 636.39.082.453.53.2

DOI: 10.52419/issn2782-6252.2024.4.57

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТОКОЛОВ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СПЕРМЫ КОЗЛОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ (ОБЗОР)

Главацкая Дарья Евгеньевна, аспирант

Корочкина Елена Александровна, д-р ветеринар. наук, доц.

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

РЕФЕРАТ

Целью данной работы является проведение анализа научно-практических данных о протоколах криоконсервации спермы козлов-производителей и эффективности их использования. Многочисленными исследованиями установлено, что характерной репродуктивной особенностью коз является сезонность, при этом наибольшая половая активность наблюдается в осенне-зимний период [1]. Сперма козлов имеет следующие видовые особенности: мембраны сперматозоидов содержат высокий уровень ненасыщенных жирных кислот, в цитоплазме клеток, напротив, отмечается незначительный объем антиоксидантных соединений. В связи с этим сперматозоиды особо чувствительны к перекисному окислению липидов, индуцируемое свободными радикалами (гидроксильные радикалы, перекись водорода), которые вызыва-

ют структурные повреждения мембраны сперматозоидов в процессе замораживания-оттаивания или хранения в охлажденном до 2–4 °С состоянии [25, 26]. Учитывая данные факты, эффективным протоколом криоконсервации, согласно результатам многочисленных исследований, является дополнительная фильтрация спермы для эффективного удаления секрета придаточных половых желез, использование разбавителя без включения яичного желтка, охлаждение при температуре 4–5 °С в течение 1,5–4 часов, упаковка в соломины объемом 0,25 - 0,5 мл. При использовании соломин объемом 0,5 мл заморозку осуществлять в два этапа: в парах жидкого азота на высоте 4 см в течение 5 минут, далее - дальнейшее погружение в жидкий азот. При использовании соломин объемом 0,25 мл, заморозка производится в три этапа: стаканы с перфорацией поместить на 16 см над уровнем жидкого азота на 2 минуты, далее на 4 см на 3 минуты, после чего полностью погрузить в жидкий азот для длительного хранения.

Ключевые слова: сперма, козлы-производители, протоколы криоконсервации.

ВВЕДЕНИЕ

Козоводство является одним из древнейших направлений животноводства. Мирошина Т.А. и Чалова Н.А. (2022) в своей работе указывают, что предки современных коз были одомашнены примерно 8-12 лет до н.э., а в работах Чикалёва А.И. (2018) и Юлдашбаева Ю.А. (2020) имеются сведения, что уже 4 тыс. лет до н.э. многие народы разводили коз с целью получения молока. Коваленко П.И. (2005) отмечает высокую молокопродуктивность коз, то есть на один килограмм живой массы от них получают 13-15 килограммов молока. При оптимальных условиях кормления и содержания за 300-314 дней от одной козы можно надоить 600-1700 кг молока жирностью 4-5%. Молочная продуктивность этих животных в расчете на 1 га сельскохозяйственных угодий может быть даже выше, чем у коров. На долю козьего молока приходится 2% мирового валового производства молока.

Козье молоко отличается своим уникальным составом, который включает большое количество макро-микронутриентов, в том числе незаменимых аминокислот, минеральных веществ, витаминов. Молоко коз существенно отличается по химическому составу от коровьего молока и является более биологически полноценным. Уровень содержания жира в козьем и коровьем молоке примерно одинаков, но в козьем молоке шарики жира меньше, следовательно, организму человека их легче переваривать. Люди с непереносимостью лактозы отдают предпочтение козьему молоку, т.к. содержание молочного сахара (лактоза) в нем намного ниже (He Tao, 2021; Goswami M., 2017). В научных исследованиях различных авторов было доказано сходство по многим показателям козьего молока с женским из-за содержания казеина A2, благодаря чему оно хорошо усваивается в организме человека и является незаменимым компонентом рационов детей, больных и пожилых людей (Санников М.Ю., 2009; М. В.; Желтова О.А. и др., 2011; Алешина М. Н., Шуварики А.С., 2013; Лесь Г.М. с соавт., 2013). В последние годы на рынке отмечают повышенный спрос на козье молоко и продукты его переработки – кефир, йогурт, творог, простокваша, сыр (Хаертдинов Р.А., 2009; Фатихов А.Г., 2016). Употребление молока и молочных продуктов благоприятно влияет на состояние здоровья человека и способствует повышению иммунитета.

Мясо коз также считается высокоценным продуктом. По содержанию витамина А (ретинола), В1 (тиамина) и В2 (рибофлавина) козлятина значительно превосходит мясо других сельскохозяй-

ственных животных. Содержание холестерина в козьем мясе в несколько раз ниже, чем в говядине и свинине. Козье мясо в сравнении с овечьим более сочное за счет большего содержания воды и лучше усваивается, т.к. в нем меньше жира (Филатов А.С. с соавт., 2011).

Несмотря на очевидные преимущества козоводства, разведение данного вида животных в России в целом остается пока на уровне любительской деятельности. Исходя из данных Федеральной службы государственной статистики в период с 2007 по 2022 год поголовье коз снизилось на 504,9 тыс. гол. или на 22,4 %, что свидетельствует о достаточно стремительном сокращении [18]. В функционирующих племенных козоводческих хозяйствах разных направлений и категорий содержится менее 1 % от общего поголовья коз, разводимых в Российской Федерации. Основная часть поголовья коз в России (более 90%), как правило, содержится в личных подсобных хозяйствах (Новопашина С.И. и др., 2008; Щетинина Е.М., Ходырева З.Р., 2014; Еремеева Н.А., 2024). Такая ситуация затрудняет передачу и использование генетических ресурсов, для улучшения качественных показателей продуктивности, что снижает эффективность селекционно-племенной работы.

Введение в практику метода искусственного осеменения позволяет значительно увеличить темп селекционно-племенной работы, уменьшает нагрузку на ценных козлов-производителей, снижает риски возникновения болезней, передающихся половым путем, что способствует существенному повышению продуктивности животных. Такой метод воспроизводства позволяет исключить все риски, связанные с транспортировкой высокоценных козлов-производителей (травмы, стресс, содержание на карантине) для получения и передачи генетического материала. Однако, при этом возникает необходимость создания оптимальных условий для хранения и транспортировки спермы, с целью максимального сохранения качества сперматозоидов. Целью данной работы является проведение анализа научно-практических данных о протоколах криоконсервации спермы козлов-производителей и эффективности их использования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалами служили научно-практические исследования ученых из России и других стран, методами - структурный и системный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Аксенова П.В. (2009) отмечает, что козлы, как и козы, имеют сезонность и проявляют наиболь-

шую половую активность в осенне-зимний период. Так, если в зимние месяцы до 80% производителей проявляли высокую половую активность, то в марте-июле 70-90% козлов не реагировали на самку. Автор указывает, что уровень спермопродукции также сильно подвержен колебаниям в зависимости от сезона года: от 0,5 мл в летний период до 1,3 мл в осенний период.

Как известно, на территории Российской Федерации действует межгосударственный стандарт – ГОСТ 32199-2013 «Средства воспроизводства. Сперма козлов. Технические условия», который регламентирует требования к качеству спермы, предназначенной для искусственного осеменения [4]. ГОСТ распространяется на свежеполученную разбавленную, свежеполученную неразбавленную и замороженную сперму. Стоит отметить, что использование свежезятого или охлажденного семени сильно ограничивает период использования ценного материала временем жизни сперматозоидов. Так, следуя ГОСТу, рекомендуемый срок хранения свежеполученной разбавленной спермы в зависимости от состава разбавителя и указаний предприятия-изготовителя – не более 24-48 ч. Что касается замороженной спермы, то срок хранения при соблюдении технических условий неограничен.

По данным многочисленных исследований в процессе криоконсервации активируется процесс перекисного окисления липидов, что негативно сказывается на целостности мембраны сперматозоидов, приводит к повреждению ДНК и других клеточных структур (R.J. Aitken et al., 1989; A.C. Erohin с соавт., 1992; D.M. Sanocka et al., 2004). Для получения хорошего результата после оттаивания важно не только учитывать степень разбавления спермы, скорость охлаждения и оттаивания, но и знать особенности физиологии сперматозоидов разных животных. Многие авторы в своих исследованиях отмечают, что сперма коз, несмотря на многие сходства со спермой других сельскохозяйственных животных, требует особого внимания для максимального повышения жизнеспособности после оттаивания (A.Roy, 1957, P.H.Purdy, 2006, Leboeuf et al., 2000). Мембраны сперматозоидов козлов, содержат высокий уровень ненасыщенных жирных кислот, а в цитоплазме клеток содержится невысокий объем антиоксидантных соединений. Поэтому сперматозоиды особо чувствительны к перекисному окислению липидов, индуцируемое свободными радикалами (гидроксильные радикалы, перекись водорода), которые вызывают структурные повреждения мембраны сперматозоидов в процессе замораживания-оттаивания или хранения в охлажденном до 2–4 °С состоянии (J. Gadea et al., 2004; A.Agarwal et al., 2005; S.Chatterjee et al., 2001).

В связи с вышеизложенными фактами, актуальным является оптимизация протоколов криоконсервации спермы козлов-производителей. Так, по результатам исследований Ерохина А.С. с соавт. (2014) было установлено, что добавление восстановленного глутатиона в оптимальной дозировке (0,04 мг/мл) в состав разбавителя, в качестве антиоксидантной системы, оказывает защитный эффект на подвижность, сохранность

акросом и живучесть половых клеток козлов как при хранении в охлажденном состоянии, так и при криоконсервации.

Как известно, яичный желток является одним из самых распространенных компонентов криопротекторных сред для спермы животных. Однако, использование таких разбавителей негативно отражается на качественных характеристиках спермы козлов. Впервые о вредном взаимодействии яичного желтка и плазмы спермы козлов в своем исследовании описал Roy A. (1957). Автор отметил, что при удалении семенной плазмы яичный желток не оказывает негативного влияния на их структуру и подвижность, однако, при наличии плазмы, происходит процесс свертывания яичного желтка и сперматозоиды погибают. Было уставлено, что в процессе коагуляции яичного желтка участвует фермент (EYCE) секрета куперовых желез, выделяющийся в процессе эякуляции. Позднее Nunes et al. (1982) провели исследования и идентифицировали белок (SBUIII) бульбоуретрального происхождения, который снижал качественные показатели спермы, разведенной в среде на основе молока, в процессе охлаждения и криоконсервации.

Для устранения вредного взаимодействия семенной плазмы и яичного желтка или молочных белков некоторые авторы предлагают «отмывать» сперматозоиды от плазмы с использованием фосфатно-солевого буфера. Клетки промывают один или два раза, каждый в течение 10-15 мин, после каждой промывки сперму центрифугируют и отделяют супернатант. (Nunes et al., 1982; Ritar and Salamon, 1982; Memon et al., 1985; Singh et al., 1995; Leboeuf et al., 1998). Багиров В.А. с соавт. (2017) отмечают трудоемкость данной методики и предлагают более простую технологию подготовки и очистки семени для дальнейших манипуляций – фильтрацию. Свежеполученную сперму помещали в шприц и под давлением пропускали через мембрану Camco25AS с диаметром пор 0,45 мкм. Задержавшиеся на поверхности мембраны сперматозоиды смывали разбавителем, объем которого равен объему полученного эякулята.

Разбавленную сперму, как правило охлаждают при температуре 4-5 °С в течение 1,5–4 часов для стабилизации ее со средой, затем замораживают в жидком азоте. Сперму замораживают двумя способами: в гранулах или соломинах. В первом случае разбавленную и охлажденную до 4°С сперму (0,1-0,3 мл) упаковывают в углубления на поверхности фторопластовой пластины (-79 °С) и затем замораживают в течение 2-4 минут. Метод заморозки спермы в гранулах прост в исполнении, не требует дорогостоящего оборудования, однако имеет ряд недостатков, связанных с высокой степенью влияния человеческого фактора и возможности микробного обсеменения образцов. При таком методе хранения невозможна маркировка гранул, что затрудняет идентификацию образцов. Заморозка спермы в соломинках требует комплект дорогостоящего стационарного оборудования, но позволяет маркировать каждый образец для точного управления запасами. После разбавления и охлаждения сперму расфасовывают в соломины (0,25 мл), которые упаковывают в гoble-

ты. Далее сперму помещают на решетку и замораживают в парах жидкого азота, температура которых зависит от высоты над жидким азотом.

Некоторые авторы утверждают, что высоту и время замораживания в парах жидкого азота должен определять объем соломинок (Chemineau et al., 1991). Так, было предложено замораживать соломины объемом 0,5 мл на высоте 4 см над уровнем жидкого азота в течение 5 минут с дальнейшим погружением, а соломины объемом 0,25 мл поместить на 16 см над уровнем жидкого азота на 2 минуты, затем опустить на 4 см на 3 минуты, после чего полностью погрузить для длительного хранения. Однако, описаны протоколы заморозки на уровне 4-5 см над жидким азотом в течение 4-5 минут, которые показали хорошую результативность (Gravance et al., 1997; Leboeuf et al., 2000).

Разморозка спермы определяется методом, который был использован для криоконсервации. Гранулы размораживают в сухой пробирке при температуре 37°C, в то время как соломины можно размораживать на водяной бане при разных температурных режимах (Evans and Maxwell, 1987). Наиболее результативным способом является разморозка на водяной бане при температуре 37°C в течение 12-30 секунд, в отличие от метода медленного размораживания, при котором температура воды в бане 5°C, а время экспозиции 2 минуты (Deka and Rao, 1987).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно констатировать, что мембраны сперматозоидов козлов содержат высокий уровень ненасыщенных жирных кислот, в цитоплазме клеток, напротив, отмечается незначительный объем антиоксидантных соединений, что делает сперматозоиды особо чувствительными к перекисному окислению липидов, индуцируемое свободными радикалами, которые вызывают структурные повреждения мембраны сперматозоидов в процессе замораживания-оттаивания или хранения в охлажденном состоянии. Также можно сделать вывод, что фермент (EYCE) и белок (SBUIII) секрета куперовых желез, выделяющиеся в процессе эякуляции, снижают качественные показатели спермы при взаимодействии с разбавителями на основе куриного желтка и молока. Эффективным протоколом криоконсервации является центрифугирование при 700 об/мин в течение 14 минут с последующим отделением плазмы спермы. После разбавления сперма для стабилизации со средой охлаждается при температуре 4°C в течение 2 часов. Заморозка производится в соломинках (0,25 мл) сначала в парах жидкого азота (4 см над его уровнем) в течение 7 минут, затем следует полное погружение. Сперму оттаивают на водяной бане при температуре 37°C в течение 30 секунд.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксенова П. В. Особенности проявления воспроизводительной функции козлов в разные сезоны года // Сельскохозяйственный журнал. 2009. №1-1.
2. Алешина, М. Н. Технологические свойства молока зааненский коз голландской и отечественных популяций / М. Н. Алешина, А.С. Шувариков // Овцы, козы, шерстяное дело. - 2013. -№ 4. - С. 23-25.
3. Багиров Вугар Алиевич, Воеводин Владимир Александрович, Кленовицкий Павел Михайлович, Иолчиев

Байлар Садрадинович, Жилинский Михаил Александрович, Шайдуллин Ильяс Нурғалиевич Повышение криоустойчивости сперматозоидов козлов в результате удаления семенной плазмы путем фильтрации // Вестник АГАУ. 2017. №9 (155).

4. ГОСТ 32199–2013. Средства воспроизводства. Сперма козлов. Технические условия. – Введен 2015-07-01. – М.: Стандарт информ, 2019. – 8 с.
5. Еремеева Н.А. Состояние отечественного козоводства на современном этапе развития в России // Российский журнал менеджмента. 2024. № 1. С. 177-185.
6. Ерохин, А. С. Влияние восстановленного глутатиона на криоустойчивость семени козлов / А. С. Ерохин, И. Е. Приданова, С. А. Хататаев // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2014. – № 1. – С. 18-20.
7. Ерохин А.С., Деряженцев В.И., Аксютин М.С. Изучение перекисного окисления липидов в сперматозоидах барана и быка методом индуцированной хемилуминесценции // Доклады ВАСХНИЛ. 1992. № 1. С. 50–53.
8. Желтова, О. А. Молочная продуктивность и качество молока коз с различными генотипами по гену бета-лактоглобулина / О.А. Желтова, А.С. Шувариков, Е.А. Гладырь // Овцы, козы, шерстяное дело. - 2011. - № 3. - С. 80 - 83.
9. Корочкина Е.А., Трифонова А.В., Финагеев Е.Ю., Главацкая Д.Е., Пушкина В.С. Влияние мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани и костного мозга козлов на качественные показатели их сперматозоидов. Международный вестник ветеринарии. 2023;(4):421-430.
10. Коваленко, П.И. Овцы и козы: породы, разведение, содержание, уход / П.И. Коваленко. –Ростов-на-Дону: Феникс, 2005. - 254 с.
11. Лесь, Г.М. Продукты на основе козьего молока / Г.М. Лесь, И.В. Хованова, С.В. Симоненко // Молочная промышленность. - 2009. - № 7. - С. 2223.
12. Мирошина, Т. А. Перспективы молочного козоводства / Т. А. Мирошина // Проблемы интенсивного развития животноводства и их решение: материалы международной научно-практической конференции, Брянск, 25–26 марта 2021 года. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2021. – С. 529-532.
13. Мясная продуктивность и химический состав мяса молодняка овец и коз / А. С. Филатов, М. В. Забелина, М. В. Белова, В. Н. Кочтыгов // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2011. – № 3. – С. 67-69. – EDN OIZYXZ.
14. Мирошин Е. В. Козоводство – производственная ниша с потенциальным ростом / Е. В. Мирошин, Т. А. Мирошина // Пища. Экология. Качество: тр. XVII Международ. науч.-практ. конф. (Новосибирск, 18–19 ноября 2020 г.) / Сиб. федер. науч. центр агробиотехнологий РАН, Урал. гос. экон. ун-т; [отв. за вып.: Мотовилов О.К., Нициевская К.Н., Тихонов С.Л.]. – Екатеринбург: Изд-во Урал. гос. экон. ун-та, 2020. – С. 408-410.
15. Новопашина, С.И. Влияние развода на молочную продуктивность зааненских коз / С.И. Новопашина, З.А. Халимбеков, М.Ю. Санников // Научные основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных: Сборник научных трудов. - СКНИИЖ. - Краснодар, 2008. - Ч. 1. -С. 34-36.
16. Санников, М.Ю. Биоритмы основных физико-химических показателей молока зааненских коз различного уровня продуктивности / М.Ю. Санников, С.И. Новопашина, З.А. Халимбеков // Сборник научных трудов СКНИИЖ «Научные основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных». Ч. 2. - Краснодар, 2009. - С. 123-124.
17. Тошев, В.К. Экстерьерные особенности коз белой русской породы и их помесей с зааненскими козлами /В.К. Тошев, Е.В. Царегородцева, Г.Н.Мустафина //Мосоловские чтения. - Йошкар-Ола, 2006. - Вып.8. - С.247-249.
18. Федеральная служба государственной статистики [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://rosstat.gov.ru> (Дата обращения: 01.08.2024)

19. Фатихов, А. Г. Технологические свойства козьего молока / А. Г. Фатихов, Р.А. Хаертдинов // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. -2016. - Т. 226. - С. 217.
20. Хаертдинов, Р.А. Белки молока / Р.А. Хаертдинов, М.П. Афанасьев, Р.П. Хаертдинов // Казань: Идел-Пресс, 2009. - 256 с.
21. Чикалёв, А.И. Козоводство: учебник / А.И. Чикалёв, Ю.А. Юлдашбаев / 2-е изд., перераб. и доп. - М.: КУРС : ИНФРА-М. - 2018. -240с.
22. Щетинина Е.М., Ходырева З.Р. Исследования состава и свойств молока, полученного от разных пород коз // Вестник АГАУ. 2014. № 4. С. 159–163.
23. Юлдашбаев Ю.А, Инновационные технологии содержания мелкого рогатого скота: анализ. обзор / Ю.А.Юлдашбаев, Н.М.Морозов, Ю.А.Колосов, В.Н.Кузьмин, Т.Н.Кузьмина, И.Ю.Свинарев. - М.: ФГБНУ «Росинформарготех». - 2020. - 80с.
24. Aitken R.J., Clarkson L.S., Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and human sperm function // Biology Reproduction. 1989. V. 40. P. 183–197.
25. Agarwal A., Prahakaran S., Said T. Prevention of oxidative stress injury to sperm // J Androl. 2005. V. 26. P. 653–660.
26. Chatterjee S., De Lamirande E., Gagnon C. Cryopreservation alters membrane sulphydryl status of bull spermatozoa: protection by oxidized glutathione // Mol. Reprod. Dev. 2001. V. 60. P. 498–506.
27. Chemineau, P., Cagnie, Y., Guerin, Y., Orgeur, P., Vallet, J.C., 1991. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. FAO Reproduction and Health Paper. Food and Agriculture Organization of the United Nations, pp. 115–161.
28. Gravance, C.G., White, C., Robertson, K.R., Champion, Z.J., Casey, P.J., 1997. The effects of cryopreservation on the morphometric dimensions of caprine sperm heads. Anim. Reprod. Sci. 49, 37–43.
29. Deka, B.B., Rao, A.R., 1987. Effect of extenders and thawing methods on post-thawing preservation of goat semen. Ind. Vet. J. 64, 591–594.
30. Evans, G., Maxwell, W.M.C., 1987. Frozen storage of semen. In: Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butter worths, Wellington, pp. 122–141.
31. Gadea J., Selles E., Marco M., Coy P., Matas C., Ruiz S. Decrease in glutathione content in boar sperm after cryopreservation. Effect of the addition of reduced glutathione to the freezing and thawing extenders // Theriogenology. 2004. V. 62. P. 690–701.
32. Goswami. Implication of functional ingredients of goat milk to develop functional foods / Goswami Meena & Bharti Sanjay & Tewari Anita & Sharma Heena & K.N. Karunakara & Khanam Tanveer // Journal of Animal Feed Science and Technology. 2017. Vol. 5. P. 65–72.
33. He Tao & Rombouts W. & Einerhand A. & Hotrum N. & Velde F. (2021). Gastric protein digestion of goat and cow milk infant formula and human milk under simulated infant conditions. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 73. 1–11. DOI: 10.1080/09637-486.2021.1921705.
34. Leboeuf, B., Manfredi, E., Boue, P., Piacere, A., Brice, G., Baril, G., Broqua, C., Humblot, P., Terqui, M., 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. Livest. Prod. Sci. 55, 193–202.
35. Leboeuf B., Restall B., Salamon S. Production and storage of goat semen for artificial insemination // Animal reproduction science. – 2000. – Т. 62. – №. 1-3. – С. 113-141.
36. Memon, M.A., Bretzlaff, K.N., Ott, R.S., 1985. Effect of washing on motility and acrosome morphology of frozen-thawed goat spermatozoa. Am. J. Vet. Res. 46, 473–475.
37. Nunes, J.F., Corteel, J.M., Combarrous, Y., Baril, G., 1982. Role du plasma seminal dans la survie in vitro des spermatozoïdes de bouc. Reprod. Nutr. Dev. 22, 611–620.
38. Purdy P.H. A review on goat sperm cryopreservation // Small Ruminant Research. – 2006. – V. 63. – №. 3. – p. 215-225.
39. Ritar, A.J., Salamon, S., 1982. Effects of seminal plasma and of its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the Angora goat. Aust. J. Biol. Sci. 35, 305–312.
40. Roy A. Egg Yolk-Coagulating Enzyme in the Semen and Cowper's Gland of the Goat // Nature. — 1957. — Vol. 179. — R. 318.
41. Sanocka D.M., Kurpisz M. Reactive oxygen species and sperm cells // Reprod. Biol. Endocrinol. 2004. V. 2. P. 12–18.
42. Silva RAJA, Batista AM, Arruda LCP, de Souza HM, Nery IHAV, Gomes WA, Soares PC, Silva SV, Guerra MMP. Concentration of soybean lecithin affects short-term storage success of goat semen related with seminal plasma removal. Anim Reprod. 2019 Nov 18;16(4):895-901. Doi: 10.21451/1984-3143-AR2019-0012.
43. Singh, M.P., Sinha, A.K., Singh, B.K., 1995. Effect of cryoprotectants on certain seminal attributes and on the fertility of buck spermatozoa. Theriogenology 43, 1047–1053.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE CRYOPRESERVATION PROTOCOLS EFFICIENCY OF GOAT SPERM (REVIEW)

Daria Ev. Glavatskaya, PhD student

*Elena Al. Korochkina, Dr.Habil. of Veterinary Sciences, Docent
Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, Russia*

The aim of this work is to analyze scientific and practical data on protocols for cryopreservation of sperm of breeding goats and the effectiveness of their use. Numerous studies have established that seasonality is a characteristic reproductive function, with the greatest sexual activity observed in the autumn-winter period [1]. Goat sperm has the following species-specific features: sperm membranes contain a high level of unsaturated fatty acids, while the cytoplasm of cells, on the contrary, contains an insignificant amount of antioxidant compounds. In connection with these spermatozoa, especially strong lipid peroxidation induced by free radicals (hydroxyl radicals, UK peroxide), which cause structural damage to sperm membranes during freezing-thawing or storage in a cold state at 2–4 °C [25, 26]. Taking these facts into account, an effective cryopreservation protocol, according to the results of numerous studies, is additional filtration of sperm for effective removal of accessory sex gland secretion, use of a diluent without egg yolk, cooling at 4–5 °C for 1.5–4 hours, packing in 0.25 - 0.5 ml straws. When using 0.5 ml straws, freezing is carried out in two stages: in liquid nitrogen vapor at a height of 4 cm for 5 minutes, then further immersion in liquid nitrogen. When using 0.25 ml straws, freezing is carried out in three stages: perforated glasses are placed 16 cm above the liquid nitrogen level for 2 minutes, then 4 cm for 3 minutes, after which they are completely immersed in liquid nitrogen for long-term storage.

Key words: sperm, breeding goats, cryopreservation protocols.

REFERENCES

1. Aksenova P. V. Features of the manifestation of the reproductive function of goats in different seasons of the year // Agricultural journal. 2009. No. 1-1.
2. Aleshina, M. N. Technological properties of milk of Saanen goats of the Dutch and domestic populations / M. N. Aleshina, A. S. Shuvarikov // Sheep, goats, wool business. - 2013. - No. 4. - P. 23-25.
3. Bagirov Vugar Alievich, Voevodin Vladimir Aleksandrovich, Klenovitsky Pavel Mikhailovich, Iolchiev Baylar Sadraddinovich, Zhilinsky Mikhail Aleksandrovich, Shaidullin Ilyas Nurgalievich Increasing the cryostability of goat spermatozoa as a result of removing seminal plasma by filtration // Bulletin of the AGAU. 2017. No. 9 (155).
4. GOST 32199–2013. Reproduction means. Goat sperm. Specifications. – Veden 2015-07-01. – М.: Standart inform, 2019. – 8 p.
5. Ereemeeva N.A. The state of domestic goat breeding at the current stage of development in Russia // Russian

Management Journal. 2024. No. 1. P. 177-185.

6. Erokhin, A.S. The effect of reduced glutathione on the cryostability of goat semen / A.S. Erokhin, I.E. Pridanova, S.A. Khataev // *Sheep, goats, wool business.* – 2014. – No. 1. – P. 18-20.
7. Erokhin A.S., Deryazhenzev V.I., Aksyutina M.S. Study of lipid peroxidation in ram and bull spermatozoa by induced chemiluminescence // *Reports of VASKhNIL.* 1992. No. 1. P. 50–53.
8. Zheltova, O. A. Milk productivity and milk quality of goats with different genotypes for the beta-lactoglobulin gene / O.A. Zheltova, A.S. Shuvarikov, E.A. Gladyr // *Sheep, goats, wool business.* - 2011. - No. 3. - P. 80–83.
9. Korochkina E.A., Trifonova A.V., Finageev E.Yu., Glavatskaya D.E., Pushkina V.S. The effect of mesenchymal stem cells from adipose tissue and bone marrow of goats on the qualitative parameters of their spermatozoa. *International Bulletin of Veterinary Medicine.* 2023; (4): 421-430.
10. Kovalenko, P.I. Sheep and goats: breeds, breeding, maintenance, care / P.I. - Rostov-on-Don: Phoenix, 2005. - 254 p.
11. Les, G.M. Products based on goat milk / G.M. Les, I.V. Khovanova, S.V. Simonenko // *Dairy industry.* - 2009. - No. 7. - P. 2223.
12. Miroshina, T. A. Prospects for Dairy Goat Breeding / T. A. Miroshina // *Problems of Intensive Development of Animal Husbandry and Their Solution: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, Bryansk, March 25–26, 2021.* – Bryansk: Bryansk State Agrarian University, 2021. – P. 529–532.
13. Meat Productivity and Chemical Composition of Young Sheep and Goat Meat / A. S. Filatov, M. V. Zabelina, M. V. Belova, V. N. Kochtygov // *Sheep, Goats, Woolen Business.* – 2011. – No. 3. – P. 67–69.
14. Miroshin E. V. Goat breeding – a production niche with potential growth / E. V. Miroshin, T. A. Miroshina // *Food. Ecology. Quality: proc. XVII Int. scientific-practical. conf. (Novosibirsk, November 18–19, 2020)* / Siberian Federal Scientific Center of Agrobiotechnology of the Russian Academy of Sciences, Ural State University of Economics; [responsible for the issue: Motovilov O. K., Nitsievskaya K. N., Tikhonov S. L.]. – Ekaterinburg: Publishing house of Ural State University of Economics, 2020. – Pp. 408–410.
15. Novopashina, S. I. Influence of milk yield on milk productivity of Saanen goats / S. I. Novopashina, Z. A. Khalimbekov, M. Yu. Sannikov // *Scientific bases for increasing productivity of farm animals: Collection of scientific papers.* - SKNIIG. - Krasnodar, 2008. - Part 1. - P. 34-36.
16. Sannikov, M.Yu. Biorhythms of the main physical and chemical parameters of milk of Saanen goats of different productivity levels / M.Yu. Sannikov, S.I. Novopashina, Z.A. Khalimbekov // *Collection of scientific papers of SKNIIG "Scientific bases for increasing productivity of farm animals". Part 2.* - Krasnodar, 2009. - P. 123-124.
17. Toshchev, V.K. Exterior features of goats of the White Russian breed and their crossbreeds with Saanen goats / V.K. Toshchev, E.V. Tsaregorodtseva, G.N. Mustafina // *Mosolov readings.* - Yoshkar-Ola, 2006. - Issue 8. - P.247-249.
18. Federal State Statistics Service [Electronic resource]. – Access mode: <https://rosstat.gov.ru> (Date of access: 08/01/2024)
19. Fatikhov, A.G. Technological properties of goat milk / A.G. Fatikhov, R.A. Khaertdinov // *Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman.* -2016. - T. 226. - P. 217.
20. Khaertdinov, R.A. Milk proteins / R.A. Khaertdinov, M.P. Afanasyev, R.R. Khaertdinov // *Kazan: Idel-Press,* 2009. - 256 p.
21. Chikalev, A.I. Goat breeding: textbook / A.I. Chikalev, Yu.A. Yuldashbaev / 2nd ed., revised and enlarged. - M.: COURSE : INFRA-M. - 2018. -240 p.
22. Shchetinina E.M., Khodyreva Z.R. Studies of the composition and properties of milk obtained from different breeds of goats // *Bulletin of the Agau.* 2014. No. 4. P. 159-163.
23. Yuldashbaev Yu.A. Innovative technologies for keeping small cattle: analytical review / Yu.A. Yuldashbaev, N.M. Morozov, Yu.A. Kolosov, V.N. Kuzmin, T.N. Kuzmina, I.Yu. Svinarev. - M.: FGBNU "Rosinformagrotech". - 2020. - 80s.
24. Aitken R.J., Clarkson L.S., Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and human sperm function // *Biology Reproduction.* 1989. V. 40. P. 183–197.
25. Agarwal A., Prahakaran S., Said T. Prevention of oxidative stress injury to sperm // *J Androl.* 2005. V. 26. P. 653–660.
26. Chatterjee S., De Lamirande E., Gagnon C. Cryopreservation alters membrane sulfhydryl status of bull spermatozoa: protection by oxidized glutathione // *Mol. Reprod. Dev.* 2001. V. 60. P. 498–506.
27. Chemineau, P., Cagnie, Y., Guerin, Y., Orgeur, P., Vallet, J.C., 1991. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. *FAO Reproduction and Health Paper.* Food and Agriculture Organization of the United Nations, pp. 115–161.
28. Gravance, C.G., White, C., Robertson, K.R., Champion, Z.J., Casey, P.J., 1997. The effects of cryopreservation on the morphometric dimensions of caprine sperm heads. *Anim. Reprod. Sci.* 49, 37–43.
29. Deka, B.B., Rao, A.R., 1987. Effect of extenders and thawing methods on post-thawing preservation of goat semen. *Ind. Vet. J.* 64, 591–594.
30. Evans, G., Maxwell, W.M.C., 1987. Frozen storage of semen. In: *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats.* Butterworths, Wellington, pp. 122–141.
31. Gadea J., Selles E., Marco M., Coy P., Matas C., Ruiz S. Decrease in glutathione content in boar sperm after cryopreservation. Effect of the addition of reduced glutathione to the freezing and thawing extenders // *Theriogenology.* 2004. V. 62. P. 690–701.
32. Goswami. Implication of functional ingredients of goat milk to develop functional foods / Goswami Meena & Bharti Sanjay & Tewari Anita & Sharma Heena & K.N. Karunakara & Khanam Tanveer // *Journal of Animal Feed Science and Technology.* 2017. Vol. 5. P. 65–72.
33. He Tao & Rombouts W. & Einerhand A. & Hotrum N. & Velde F. (2021). Gastric protein digestion of goat and cow milk infant formula and human milk under simulated infant conditions. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.* 73. 1–11. DOI: 10.1080/09637-486.2021.1921705.
34. Leboeuf, B., Manfredi, E., Boue, P., Piacere, A., Brice, G., Baril, G., Broqua, C., Humblot, P., Terqui, M., 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livest. Prod. Sci.* 55, 193–202.
35. Leboeuf B., Restall B., Salamon S. Production and storage of goat semen for artificial insemination // *Animal reproduction science.* – 2000. – T. 62. – №. 1-3. – С. 113-141.
36. Memon, M.A., Bretzlaff, K.N., Ott, R.S., 1985. Effect of washing on motility and acrosome morphology of frozen-thawed goat spermatozoa. *Am. J. Vet. Res.* 46, 473–475.
37. Nunes, J.F., Corteel, J.M., Combarous, Y., Baril, G., 1982. Role du plasma seminal dans la survie in vitro des spermatozoïdes de bouc. *Reprod. Nutr. Dev.* 22, 611–620.
38. Purdy P.H. A review on goat sperm cryopreservation // *Small Ruminant Research.* – 2006. – V. 63. – №. 3. – p. 215-225.
39. Ritar, A.J., Salamon, S., 1982. Effects of seminal plasma and of its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the Angora goat. *Aust. J. Biol. Sci.* 35, 305–312.
40. Roy A. Egg Yolk-Coagulating Enzyme in the Semen and Cowper's Gland of the Goat // *Nature.* — 1957. — Vol. 179. — R. 318.
41. Sanocka D.M., Kurpisz M. Reactive oxygen species and sperm cells // *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2004. V. 2. P. 12–18.
42. Silva RAJA, Batista AM, Arruda LCP, de Souza HM, Nery IHAV, Gomes WA, Soares PC, Silva SV, Guerra MMP. Concentration of soybean lecithin affects short-term storage success of goat semen related with seminal plasma removal. *Anim Reprod.* 2019 Nov 18;16(4):895-901. Doi: 10.21451/1984-3143-AR2019-0012.
43. Singh, M.P., Sinha, A.K., Singh, B.K., 1995. Effect of cryoprotectants on certain seminal attributes and on the fertility of buck spermatozoa. *Theriogenology* 43, 1047–1053