



## ЖИВОТНОВОДСТВО

УДК 636.082.453

Е.В. Четвертакова

### ВЛИЯНИЕ ЗИМНЕ-ВЕСЕННЕГО ПЕРИОДА ГОДА НА ДОЛЮ АНОМАЛЬНЫХ ФОРМ СПЕРМАТОЗОИДОВ В НАТИВНОЙ И КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ СПЕРМЕ ГОЛШТИНСКИХ БЫКОВ-СПЕРМОДОНОРОВ

*Автором на основании исследований, проводимых в ОАО «Красноярскагроплем» в зимне-весенний период, выявлено, что качество спермопродукции быков-спермодоноров зависит от разных факторов, в том числе от генотипа особи и паратипических факторов, таких, например, как сезон года. Проведен анализ спермопродукции быков голштинской породы разных генетических линий на долю аномальных спермиев (ДАС).*

**Ключевые слова:** генотип, бык-производитель, сперматозоид, доля аномальных форм сперматозоидов, нативная и криоконсервированная сперма.

E.V. Chetvertakova

### WINTER-SPRING YEAR SEASON INFLUENCE ON THE ANOMALOUS SPERM CELL FORM SHARE IN THE NATIVE AND CRYOPRESERVED SPERM OF THE HOLSTEIN BULL-SPERM DONORS

*On the basis of the research that has been conducted in PJSC "Krasnoyarskagroplem" in the winter-spring period, it is determined by the author that sperm production quality of the bull- sperm donors depends on various factors, including the species genotype and paratypical factors, for example, such as year season. The sperm production analysis of the Holstein breed bulls of different genetic lines on the anomalous spermium share (ASS) is conducted.*

**Key words:** genotype, stud bull, sperm cell, anomalous sperm cell form share, native and cryopreserved sperm.

В условиях повсеместного использования искусственного осеменения крупного рогатого скота особое внимание уделяется качеству получаемой спермопродукции, так как от этого зависит результативность осеменения коров. Одним из показателей качества спермы быков является доля аномальных форм сперматозоидов, которая может варьировать в зависимости как от генотипа быка-производителя, так и от паратипических факторов.

**Цель исследования.** Анализ спермопродукции быков голштинской породы линий М. Чифтейн 95679 (n=16), В.Б. Айдиал 933122 (n=9), П. Говернер 882933 (n=11), С.Т. Рокит 252803 (n=6), Рф. Соверинг 198998 (n=13) на наличие патологических форм сперматозоидов в зимне-весенний период. Исследования проводились на базе лабораторий ОАО «Красноярскагроплем» и кафедры разведения, генетики и биотехнологии ФБГОУ ВПО «КрасГАУ». Спермопродукция оценивалась в соответствии с ГОСТами [1, 2]. Учитывались аномальные формы: 1) оторванные головки – ОГ; 2) загнутые хвосты – ЗХ; 3) деформация головки – ДГ; 4) разрыв головок – РГ; 5) разрыв хвостов – РХ; 6) слипание хвостами – СХ; 7) тератологические формы – ТФ; 8) слипание головками – СГ.

Проведенные исследования показали, что у быков линии Рф. Соверинг доля аномальных спермиев (ДАС) в нативной сперме в зимний период в среднем по группе соответствовала требованиям ГОСТа и составляла 17,5%, но значительно увеличивалась в криоконсервированной сперме. Доля сперматозоидов с загнутыми хвостами в криоконсервированной сперме возрастала на 0,35% ( $P \leq 0,999$ ), РГ на 2,68% ( $P \leq 0,99$ ). По другим аномалиям, хотя отмечена тенденция к росту, достоверных различий не установлено (табл.).

В этой группе обратили на себя внимание быки Визитёр 16 и Гипс, у которых ДАС в нативной сперме соответствовала ГОСТу, но резко возросла после криоконсервации – до 56,2 и 70% соответственно. Увеличение произошло за счет повреждения структур жгутика. Оба быка являются внуками Валианта 502383.

Таким образом, у Гипса и Визитёра 16 выявлена низкая способность гамет к криоконсервации, причем наиболее уязвимыми оказались структуры жгутиков. У быков этой линии встречается весь спектр учитываемых нами аномалий спермиев. Следует отметить такую аномалию, как слипание головками. Если в нативной сперме этот порок качества составил 0,17%, то в криоконсервированной он возрос до 20,1%, т. е. после размораживания 1/5 спермиев теряла заряд на поверхности мембран, что приводило к слипанию головок [Паршутин Г.В., 1983; Ожин Ф.В., 1983].

В весенний период у быков линии Рф. Соверинг спектр аномалий, которые проявляются чаще, не изменился, однако снижался уровень аномальных спермиев как в нативной, так и криоконсервированной сперме – до 16,9 и 26,2% соответственно (табл.). В сперме быков этой линии в весенний период, так же, как и зимой, в криоконсервированной сперме возрастает доля спермиев с ЗХ на 4,25% ( $P \leq 0,95$ ) и доля тератогических форм на 0,68% ( $P \leq 0,999$ ).

В данной линии следует отметить быка Томката 116, который весь период эксплуатации характеризовался стабильными половыми функциями, высоким качеством семени независимо от сезона года.

У быков линии С.Т. Рокит в среднем по группе в зимний период ДАС как в нативной, так и криоконсервированной сперме превышала требования ГОСТа на 13 и 16,4% соответственно. В криоконсервированной сперме быков этой линии зимой из-за потери заряда на поверхности мембран увеличивается доля спермиев, слипшихся головками, с 3,35 в нативной до 8,03% ( $P \leq 0,99$ ) в криоконсервированной. Отмечена по другим аномалиям тенденция роста. В данной линии у сыновей Догай Энханкера Реда 9718, Весёлого и Одуванчика за весь период исследования сперма содержала высокий уровень аномальных форм сперматозоидов.

В весенний период в среднем по группе быков линии С.Т. Рокит ДАС значительно снижалась в нативной до 18,7%, в криоконсервированной сперме – до 29,2%, но следует отметить, что весной в криоконсервированной сперме почти в два раза увеличивалась доля спермиев со слипшимися головками – до 8,1%.

Весной у сыновей Догай Энханкер Ред 9718, Весёлого и Одуванчика доля аномальных спермиев значительно снижалась, но превышала требования ГОСТа.

**Структура морфологических нарушений в строении сперматозоидов быков разных линий, % ( $X \pm m_x$ )**

Период	Сперма	Линии быков	Формы сперматозоидов							
			1	2	3	4	5	6	7	8
ЗИМНИЙ	нативная	М. Чифтейн	4,22±0,9	11,2±2,9	0,50±0,2	0,70±0,2	2,90±1,0	0,90±0,3	1,40±0,7	3,60±0,8
		Рф. Соверинг	1,47±0,4	8,85±2,6	0,41±0,2	1,21±0,5	1,51±0,6	0,34±0,2	0,32±0,1	3,37±0,9
		В.Б. Айдиал	2,09±0,9	8,22±2,5	0,11±0,007	0,89±0,4	1,29±0,7	0,42±0,2	0,72±0,3	3,94±1,8
		П. Говернер	2,48±0,7	8,36±2,5	0,13±0,1	2,38±2,2	3,14±1,0	0,52±0,2	1,72±0,8	3,25±0,7
		С.Т. Рокит	4,38±1,8	17,74±5,7	0,24±0,2	1,86±1,2	2,36±0,9	0,10±0,1	1,01±0,4	3,35±1,2
	криоконсервированная	М. Чифтейн	3,00±0,6	13,1±2,7	5,07±0,2	0,70±0,3	5,70±1,4	1,60±0,7	1,13±0,6	7,20±1,4
		Р. Соверинг	6,08±3,7	9,2±2,0	0,55±0,4	3,89±2,4	3,87±1,1	0,56±0,3	0,56±0,25	6,97±1,7
		В.Б. Айдиал	1,51±0,7	11,15±4,0	0,72±0,6	1,06±0,5	5,94±1,8	0,85±0,4	0,36±0,1	7,06±1,6
		П. Говернер	5,38±3,7	15,3±3,9	0,10±0,05	2,57±2,4	7,65±2,2	0,54±0,3	0,33±0,16	4,68±1,5
		С.Т. Рокит	3,43±1,8	13,27±1,9	0,23±0,2	3,25±1,7	9,18±4,6	0,11±0,1	0,36±0,3	8,03±0,3
ВЕСЕННИЙ	нативная	М. Чифтейн	2,40±0,5	6,90±1,1	0,30±0,1	0,70±0,21	2,10±0,3	0,80±0,2	0,70±0,3	6,10±0,7
		Р. Соверинг	1,92±0,4	5,47±1,4	0,30±0,1	1,24±0,3	1,57±0,6	0,57±0,2	0,30±0,1	5,56±0,8
		В.Б. Айдиал	1,19±0,3	6,79±2,1	0,26±0,1	0,76±0,3	1,88±0,6	1,46±0,8	0,45±0,2	5,37±0,9
		П. Говернер	2,17±0,7	4,13±0,6	0,27±0,08	0,51±0,1	2,25±0,6	0,52±0,2	0,48±0,2	4,23±0,7
		С.Т. Рокит	1,87±0,7	5,33±1,1	0,21±0,1	1,29±0,6	2,64±0,5	0,21±0,12	0,99±0,5	6,13±1,9
	криоконсервированная	М. Чифтейн	3,10±0,6	5,70±1,1	0,40±0,1	1,50±0,21	9,30±1,2	2,20±0,4	0,60±0,2	6,50±0,9
		Р. Соверинг	4,47±1,4	4,55±1,1	0,69±0,3	1,98±1,2	5,82±1,7	1,17±0,4	0,98±0,4	6,57±1,0
		В.Б. Айдиал	2,46±0,7	4,79±1,4	0,53±0,3	1,30±0,4	6,34±1,8	1,16±0,2	0,42±0,2	7,14±1,1
		П. Говернер	2,08±0,6	9,93±1,6	0,51±0,3	1,08±0,2	10,18±2,4	1,77±0,6	0,59±0,3	5,79±1,3
		С.Т. Рокит	1,86±0,5	7,98±1,8	0,42±0,1	1,62±0,7	7,29±2,2	0,65±0,4	1,29±1,0	8,09±1,5

Примечание: 1 – оторванные головки; 2 – загнутые хвосты; 3 – деформация головки; 4 – разрыв головок; 5 – разрыв хвостов; 6 – слипание хвостами; 7 – тератологические формы; 8 – слипание головками.

У быков линии М. Чифтейн в среднем по группе в нативной сперме зимнего периода ДАС превышала требования ГОСТа на 7,4%. Наибольшую долю аномалий составляли спермии с загнутыми хвостами, доля которых возрастала в криоконсервированной сперме на 1,9% ( $P \leq 0,99$ ), с деформацией головок на 4,6% ( $P > 0,999$ ), слипшихся головкам на 3,6% ( $P > 0,95$ ) (рис.1).



*Рис. 1. Сперма быка Кувшинчика 74331/8995 КСС 1487 (разрушение хвоста и лизис головок в криоконсервированной сперме)*

В криоконсервированной сперме ДАС возрастала до 33,1%, в основном за счёт таких же нарушений. Высокий уровень аномальных форм спермиев был обнаружен у быка Дарёного 99, в нативной сперме которого ДАС составляла 28%, а в криоконсервированной возрастала до 47,4%.

Обратили на себя внимание быки Ватин и Вес, у которых ДАС в нативной сперме была в пределах нормы, но резко возрастала в криоконсервированной сперме до 41,2 и 48,5% соответственно. Основную долю аномалий составляли спермии с аномалиями хвоста. Кроме того, у Веса резко возросло количество спермиев, слипшихся головками.

В весенний период в среднем по группе быков линии М. Чифтейн количество аномальных спермиев снижается по сравнению с зимним периодом, но остаётся высоким как в нативной, так и криоконсервированной сперме – 20,2 и 29,2% соответственно. В криоконсервированной сперме увеличивается доля спермиев с разрушенными головками на 0,8% ( $P > 0,99$ ), разрушенными хвостами – на 7,2% ( $P > 0,999$ ), со слипшимися хвостами – на 1,4% ( $P > 0,99$ ).

В этот период как в нативной, так и криоконсервированной сперме ДАС снижается, но остаётся стабильно высокой у быков Вихря – 30,4 и 22,3%, Родного – 31,6 и 18,7%, Карата – 20 и 36,4% соответственно. Следует выделить сыновей Хариуса 2170 – Севка и Трефа, отличающихся низким содержанием аномальных форм спермиев и высокой переносимостью гамет к криоконсервации.

У быков линии В.Б. Айдиал в зимний период ДАС в нативной сперме в среднем соответствовала ГОСТу, но превышала на 10,7% в криоконсервированной. Значительную долю аномалий как в нативной, так и в криоконсервированной сперме составляли спермии с ЗХ – от 8,2 до 11,2%, и СГ – от 3,9 до 7,1%. В криоконсервированной сперме, в сравнении с нативной, значительно возрастала доля спермиев с разрушенными хвостами – от 1,3 до 5,9% ( $P > 0,95$ ). Быки Вампир, Вершок и Вымпел имели ДАС как в нативной, так и криоконсервированной сперме значительно выше нормы. Плохую способность спермиев к криоконсервированию в зимний период показал бык Беляш (ДАС – 31,4%).

В весенний период в среднем по линии В.Б. Айдиал ДАС в нативной сперме составила 18,2%. Виды аномалий спермиев в данной линии не изменялись. В криоконсервированной сперме ДАС снижалась по сравнению с зимним периодом в 1,5 раза – до 24%, но превышала норму на 6%. Как и в зимний период, наи-

более часто встречались аномалии спермиев с ЗХ – 6,8%. В криоконсервированной сперме, так же как и в зимний период, увеличивалась доля спермиев с разрушенными хвостами на 4,46% ( $P>0,95$ ).

В этой линии правнуки Р.О.Р. Эппл Элевейшн 1491007 Беляш и Вымпел за весь период исследования показывали высокую ДАС.

От таких быков, как Мирный и Велюр, за весь период исследования получали спермопродукцию, отвечающую требованиям ГОСТа по анализируемому показателю.

В криоконсервированной сперме у всех быков линии В.Б. Айдиал увеличивалась доля спермиев, слипшихся головками, что свидетельствует о потере заряда на поверхности мембран.

У быков линии П. Говернер в нативной сперме в зимний период в среднем ДАС составляла 22%, в криоконсервированной сперме – 38,8%. Наиболее часто встречались аномалии хвоста, слипание головками и спермии с оторванными головками, причём последний порок значительно возрастал после размораживания. Вероятно, изменились состав и фазовое состояние мембранных липидов, так как они определяют характер и размеры криоповреждения клеток [Наук В.А., 1987; Нарижный А.Г., 1993].

Высокой ДАС, как в нативной, так и в криоконсервированной сперме, отличаются быки Ирис (58,3%), Витязь, Висмут и Умелый.

У некоторых быков, например Иркутта и Пунша, нативная сперма по ДАС соответствовала норме, но доля аномалий резко возрастает после размораживания – до 45,3% у Иркутта и до 73,1% у Пунша. Основную долю аномалий составили спермии с загнутыми и разрушенными хвостами. У Фотона ДАС в нативной сперме в зимний период составляла 7%, но также возрастала после размораживания до 36,4%, в дальнейшем он был выбракован по причине некроспермии. В сперме этого быка часто встречались свободные головки (рис.2).



Рис. 2. Сперма быка Фотона 2412 КСС1469 (наличие свободных головок в нативной сперме)

Иркутт и Пунш имеют общего предка Ховарда Хома Кодемана 1842371, который является дедом Иркутта и Пунша.

В весенний период в группе быков линии П. Говернера в нативной сперме в среднем по группе ДАС составляла 14,6%, но значительно возрастала в криоконсервированной – до 31,9%. В этот период ДАС в среднем по группе снижалась как в нативной, так и в размороженной сперме. В нативной сперме доля аномальных форм спермиев находилась в пределах нормы, но после размораживания она, так же, как и зимой, возрастала до 31,9%, что свидетельствует о плохой переносимости спермой криоконсервации.

В весенний период в криоконсервированной сперме быков этой линии доля спермиев с загнутыми хвостами возрастала на 5,8% ( $P>0,99$ ), с разрушенными головками на 0,57% ( $P>0,95$ ), с разрушенными хвостами на 7,93 ( $P>0,99$ ), спермиев со слипшимися головками на 1,56% ( $P>0,99$ ). Весной, так же как и зимой, ДАС в нативной сперме быков Пунша и Ириса соответствовала ГОСТу, но значительно возрастала в криоконсервированной – до 37,4 и 44,4% соответственно. Основную долю аномалий у них составляли спермии с загнутыми хвостами.

Несмотря на благоприятные внешние условия внешней среды, увеличение светового дня, более длительный моцион, ДАС в криоконсервированной сперме быков этой линии остаётся высокой и значительно превышает требования ГОСТа.

При сравнении криоконсервированной спермы, полученной в разные сезоны года, установили, что в сперме быков линии М. Чифтейн в зимний период доля спермиев с загнутыми хвостами была больше, чем весной, на 7,4% ( $P>0,99$ ), спермиев с деформацией головок на 4,67% ( $P>0,999$ ), а спермиев с разрушенными головками и разрушенными хвостами было больше весной на 0,8 ( $P>0,95$ ) и 3,6% ( $P>0,99$ ) соответственно. У быков линии С.Т. Рокит количество тератологических форм также увеличивалось на 0,06% в весенний период ( $P>0,99$ ).

Таким образом, в результате проведённых исследований выявлено, что аномальные спермии с загнутыми хвостами и свободными головками встречаются часто и во всех линиях; можно предположить, что эти аномалии могут иметь генетическое происхождение, так как оторванные головки относят к первой группе дефектов, загнутые хвосты – ко второй [Визнер Э., Виллер З., 1979].

Было отмечено, что в весенний период количество патологических форм спермиев снижается по сравнению с зимним как в нативной, так и в криоконсервированной сперме. Получение спермы более высокого качества весной, вероятно, связано с увеличением светового дня, более длительным моционом [Кононов В.П., Дьякевич О.Н., 1997; Порфирьев И.А. и др., 2003].

Гаметы быков-спермодоноров разных линий при криоконсервировании обнаружили индивидуальные особенности. Выявленные нарушения структуры гамет свидетельствуют об отсутствии у некоторых быков достаточного адаптационного резерва для обеспечения предъявляемых эксплуатационных требований.

Выявлены родственные группы быков, отличающиеся низким содержанием аномальных форм спермиев и высокой переносимостью гамет к криоконсервированию, – Севок и Треф – сыновья Хариуса 2170.

В линии Р. Соверинг следует отметить быка Томката, который весь период исследования отличался высоким качеством семени и стабильными половыми функциями.

Выявлены быки-спермодоноры, состоящие в родстве, спермии которых имеют плохую способность к криоконсервированию – Гипс и Визитёр (Р. Соверинг); Иркут и Пунш имеют общего предка Ховарда Хома Кодемана 1842371, который является дедом Иркуты и Пунша; Беляш и Вымпел являются правнуками Р.О.Р. Эплл Элевейшн 1491007; Весёлый и Одуванчик – сыновья Догай Энханкера Реда 9718.

Таким образом, необходимо определять ДАС у быков-спермодоноров как в нативной, так и в криоконсервированной сперме с учетом сезона года. Выявлять быков со стабильными половыми функциями, дающих спермопродукцию, отвечающую требованиям ГОСТа, и родственные группы быков, сперма которых содержит высокий уровень аномальных форм спермиев и плохо переносит криоконсервацию. С учетом этого определять их дальнейшее использование.

### Литература

1. ГОСТ 23745-79. «Сперма быков неразбавленная свежеполученная». Технические требования и методы испытаний / Государственный комитет СССР по стандартам. – М.: Изд-во стандартов, 1979. – 4 с.
2. ГОСТ 26030-83. «Сперма быков замороженная». Технические условия / Государственный комитет СССР по стандартам. – М.: Изд-во стандартов, 1984. – 4 с.
3. *Визнер Э., Виллер З.* Ветеринарная патогенетика. – М.: Колос, 1979. – 424 с.
4. *Кононов В.П., Дьякевич О.Н.* Половая активность быков по сезонам года // Зоотехния. – 1997. – №5. – С. 20–22.
5. *Порфирьев И.А., Сот Сун, Рабинович И.Е.* Репродуктивные качества и адаптационная способность быков-производителей голштинской и красной датской пород в условиях Алтайского края // С.-х. биология. – 2003. – №4. – С. 62–68.
6. *Наука В.А.* Криоконсервация спермы животных – техническая основа крупномасштабной селекции // Мат-лы V съезда Всесоюзного общества генетиков и селекционеров. – М., 1987. – 142 с.
7. *Нарижный А.Г., Ерохин А.С., Рочёв М.Ф.* Влияние антиоксидантов и способов криоконсервации на перекисидацию липидов в сперме // Докл. рос. акад. с.-х. наук. – 1993. – № 6. – С. 32–35.
8. *Паршутин Г.В., Михайлов И.Н., Козло И.Е.* Искусственное осеменение с.-х. животных: учеб. пособие. – М.: Колос, 1983. – 223 с.
9. *Справочник по искусственному осеменению с.-х. животных: учеб. пособие / Ф.В. Ожин [и др.].* – М.: Россельхозиздат, 1983. – 225 с.