

Светлана Николаевна Ушакова^{1✉}, Байлар Садраддинович Иолчиев²,
Дмитрий Владимирович Машталер³, Ирина Евгеньевна Приданова⁴,
Татьяна Антольевна Мороз⁵

^{1,2,3,4,5}ВНИИПлем, Пушкино, Московская область, Россия

¹S7985588@mail.ru

²baylar1@yandex.ru

³mashtaler-1989@mail.ru

⁴irinapridanova@yandex.ru

⁵t_moroz_2013@mail.ru

ХАРАКТЕРИСТИКИ ЗАМОРОЖЕНО-ОТТАЯННОГО СЕМЕНИ ПЛЕМЕННЫХ БЫКОВ МОЛОЧНЫХ И КОМБИНИРОВАННЫХ ПОРОД

Цель исследований – провести сравнительное изучение заморожено-оттаянного семени племенных быков молочного и комбинированного направлений продуктивности. Задачи: оценить качественные показатели криоконсервированного семени быков в трех временных точках: сразу после оттаивания, через 1 и 3 ч после оттаивания; изучить уровень фрагментации ДНК сперматозоидов у быков молочных и комбинированных пород. Объект исследований – сперма быков-производителей племенных предприятий Российской Федерации. Для изучения были отобраны образцы криоконсервированного семени ($n = 87$) быков молочных пород (голландской и ярославской), а также комбинированных пород (симментальской и костромской). Исследовали подвижность сперматозоидов, сохранность структуры ДНК сразу после оттаивания, через 1 и 3 ч после оттаивания. Сразу после оттаивания содержание сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением составило ($48,27 \pm 1,896$) % для быков молочных пород и ($46,04 \pm 1,771$) % для комбинированных пород. Через 3 ч количество прогрессивно-подвижных сперматозоидов уменьшилось до ($16,05 \pm 1,263$) % для молочных пород и до ($12,66 \pm 2,829$) % для комбинированных. Более высокая фрагментация ДНК обнаружена в сперме быков-производителей молочного направления продуктивности с показателями: момент хвоста (Tail Moment) – $0,291 \pm 0,012$ и длина кометы (Comet Length) – $27,786 \pm 0,042$, а быки комбинированных пород отличались меньшими значениями поврежденности ДНК (момент хвоста – $0,091 \pm 0,024$, длина кометы – $25,663 \pm 0,088$). В изученной нами выборке быки комбинированного направления уступали быкам молочного направления продуктивности по выживаемости сперматозоидов. Быки молочного направления продуктивности отличались более высокими значениями большинства параметров, характеризующих поврежденность ДНК, в сравнении с быками комбинированных пород. Эти межпородные различия следует учитывать при селекционно-племенной работе и разработке технологий криоконсервации спермы.

Ключевые слова: быки-производители, качество спермы быков, сперматозоиды, ДНК-фрагментация, вспомогательные репродуктивные технологии

Для цитирования: Ушакова С.Н., Иолчиев Б.С., Машталер Д.В., и др. Характеристики заморожено-оттаянного семени племенных быков молочных и комбинированных пород // Вестник КрасГАУ. 2026. № 1. С. 131–141. DOI: 10.36718/1819-4036-2026-1-131-141.

Финансирование: работа проведена в рамках выполнения Государственного задания № 082–00089-24-00 на 2024 год по теме 2.1.4 «Воспроизводительные качества быков отечественной и зарубежной селекции в зависимости от возраста, интерьерных показателей, породы и направления продуктивности».

Svetlana Nikolaevna Ushakova^{1✉}, Bailar Sadraddinovich Iolchiev²,
Dmitry Vladimirovich Mashtaler³, Irina Evgenyevna Pridanova⁴, Tatyana Anatolyevna Moroz⁵

^{1,2,3,4,5}VNIIPlem, Pushkino, Moscow Region, Russia

¹s7985588@mail.ru

²baylar1@yandex.ru

³mashtaler-1989@mail.ru

⁴irinapridanova@yandex.ru

⁵t_moroz_2013@mail.ru

CHARACTERISTICS OF FROZEN-THAWED SEMEN FROM BREEDING BULL OF DAIRY AND COMBINED BREEDS

The aim of research is to conduct a comparative study of frozen-thawed semen from breeding bulls of dairy and combined breeds. Objectives: to evaluate the quality of cryopreserved semen at three time points: immediately after thawing, 1 hour after thawing, and 3 hours after thawing; to study the level of sperm DNA fragmentation in bulls of dairy and combined breeds. The object of the study was the semen of sires from breeding enterprises of the Russian Federation. Samples of cryopreserved semen (n = 87) from bulls of dairy breeds (Holstein and Yaroslavl), as well as combined breeds (Simmental and Kostroma) were selected for the study. Sperm motility and DNA structure integrity were studied immediately after thawing, 1 hour after thawing, and 3 hours after thawing. Immediately after thawing, the content of spermatozoa with rectilinear-progressive movement was $(48.27 \pm 1.896) \%$ for dairy breed bulls and $(46.04 \pm 1.771) \%$ for combined breeds. After 3 hours, the number of progressively motile sperm decreased to $(16.05 \pm 1.263) \%$ for dairy breeds and to $(12.66 \pm 2.829) \%$ for combined breeds. Higher DNA fragmentation was found in the semen of dairy bulls with the following parameters: Tail Moment – 0.291 ± 0.012 and Comet Length – 27.786 ± 0.042 , while bulls of combined breeds had lower DNA damage values (Tail Moment – 0.091 ± 0.024 , Comet Length – 25.663 ± 0.088). In the sample we studied, combined breed bulls were inferior to dairy breed bulls in sperm survival rate. Dairy bulls exhibited higher values for most parameters characterizing DNA damage compared to bulls of mixed breeds. These interbreed differences should be considered in selection and breeding work and the development of sperm cryopreservation technologies.

Keywords: stud bulls, bull semen quality, spermatozoa, DNA fragmentation, assisted reproductive technologies

For citation: Ushakova SN, Iolchiev BS, Mashtaler DV, et al. Characteristics of frozen-thawed semen from breeding bull of dairy and combined breeds. *Bulletin of KSAU*. 2026;(1):131-141. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2026-1-131-141.

Funding: the work was conducted as part of State Assignment No. 082–00089-24-00 for 2024, Topic 2.1.4, Reproductive Qualities of Domestic and Foreign-Breeding Bulls Depending on Age, Interior Characteristics, Breed, and Productivity Trends.

Введение. Успехи, достигнутые в последнее время в развитии передовых репродуктивных биотехнологий, таких как криосохранение гамет и эмбрионов, разделение семени по полу, синхронизация эстральных циклов самок сельскохозяйственных животных, трансплантация эмбрионов, в том числе эмбрионов с определенным полом, позволяют значительно ускорить генетический прогресс в стадах [1]. В контексте применения к сельскохозяйственным животным вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) охватывают широкий спектр методов и процедур, направленных на управление поло-

выми циклами, манипуляции с гаметам и эмбрионами. Цель применения ВРТ – сохранение, оптимальное использование и улучшение генетического потенциала животных.

Внедрение таких технологий ускоряет генетический прогресс, снижает риск передачи заболеваний и увеличивает количество животных за счет искусственного оплодотворения, множественной овуляции и трансплантации эмбрионов. Трансплантация эмбрионов позволяет производителям улучшить качество своего стада с использованием высокопродуктивных коров в качестве доноров и менее продуктивных

животных в качестве реципиентов, еще больший эффект может быть достигнут при трансплантации эмбрионов с определенным полом, полученных при оплодотворении сексированной спермой [2].

Селекционные программы в последнее время были направлены на поиск характеристик, необходимых для увеличения надоев, повышения количества жира и белка в молоке. При этом репродуктивным характеристикам животных уделяли слишком мало внимания. Повышение показателей воспроизводства является ключевым фактором для эффективного роста поголовья крупного рогатого скота [1].

Как свидетельствуют данные научных исследований, существуют достоверные различия по качественным характеристикам спермы (объем эякулята, концентрация, подвижность сперматозоидов), ее оплодотворяющей способности, количеству мертворожденных и аборт в зависимости от возраста, генотипа, породной принадлежности и происхождения быков-производителей [3–6]. Влияние возраста на качество спермы наиболее изучено. В.Р. Pardede et al. (2020), Б.С. Иолчиев и др. (2024) считают, что возраст производителя влияет на качественные показатели спермы [3, 4].

В исследовании Е.Н. Нарышкиной (2021) многофакторный дисперсионный анализ показал, что оплодотворяющая способность семени быков-производителей на 27,5 % общей дисперсии обусловлена влиянием генетических факторов, а на 15,6 и 12,3 % – влиянием таких паратипических факторов, как «хозяйство» и «техник искусственного осеменения» [5]. Л.В. Холодова (2022) изучала межпородные различия в оплодотворяющей способности спермы быков голштинской и черно-пестрой породы в хозяйствах Республики Марий-Эл. Установлено, что оплодотворяющая способность семени производителей голштинской породы была выше и в среднем составила 79,9 %, а у быков черно-пестрой породы – 64,5 % [6]. При этом Л.В. Холодова отмечает, что оплодотворяющая способность изученных быков характеризовалась значительной индивидуальной изменчивостью и колебалась от 50,8 до 98 % [6]. При этом все авторы отмечают, что оплодотворяющая способность быков характеризуется значительной индивидуальной изменчивостью.

Эффективность использования в программах вспомогательных репродуктивных технологий

ценных в племенном отношении быков-производителей зависит от биологической полноценности их семени, а это подразумевает не только подвижность, концентрацию сперматозоидов, но и сохранность различных структурных единиц сперматозоидов, целостность ядерной ДНК после процедур замораживания-оттаивания [4]. В настоящее время для анализа состояния ДНК в половых клетках самцов используют различные тесты, такие как Comet, TUNEL, SCSA и др. [7, 8].

Исследованиями установлено, что сперматозоиды с высокой степенью фрагментации ДНК сохраняют способность двигаться и оплодотворять яйцеклетку, но при этом могут отмечаться нарушения эмбриогенеза и ранняя эмбриональная смертность [9, 10]. Согласно последним научным данным, существует тесная связь между поврежденностью ДНК сперматозоидов и субфертильностью и бесплодием мужских особей [10].

Целостность ДНК в сперматозоидах необходима для успешного оплодотворения и нормального развития эмбриона. Влияние фрагментированной ДНК на фертильность отмечают многие авторы, и за последние десятилетия обсуждались различные подходы к определению возникновения этих нарушений [7, 11, 12]. По мнению D.P. Evenson (2022), при уровне DFI 25 % и более вероятность естественного зачатия снижается из-за ухудшения оплодотворяющей способности спермы [7].

В случае, если сперматозоид с поврежденной ДНК оплодотворяет яйцеклетку, возможна как репарация ДНК [12], так и включение ее в геном, если повреждение подавляет механизмы восстановления, что при последующем развитии эмбриона приведет к накоплению отрицательных мутаций и заболеваний [12, 13].

Имеются исследования, подтверждающие влияние возраста производителя на качество спермы и целостность ДНК. В работе В.Р. Pardede et al. (2020), проведенной на местной породе быков, показано, что с увеличением возраста достоверно повышается фрагментация ДНК сперматозоидов ($p < 0,01$), снижается число сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением ($p < 0,01$) [3]. В исследовании, проведенном Б.С. Иолчиевым с соавторами на быках в возрасте от 14 до 101 месяца, установлено, что возраст быков оказывал статистически значимое влияние на характер подвижности сперматозоидов и сохранность их

ядерной ДНК, при этом максимальная поврежденность ДНК отмечена у быка в возрасте 14 мес., минимальная – у быка в возрасте 49 мес. [4]. Данные о влиянии возраста производителя на уровень фрагментации ядерной ДНК сперматозоидов противоречивы, требуются дальнейшие исследования в этой области.

Необходимо отметить, что в современной научной литературе практически отсутствуют работы о влиянии породы и направления продуктивности быков-производителей на уровень поврежденности ДНК сперматозоидов. В исследовании J. Morrell et al. (2018) приводится сравнительный анализ характеристик семени быков молочных и мясных пород. Установлено, что целостность мембран и число сперматозоидов с нормальной морфологией были выше, а индекс фрагментации ДНК ниже у быков молочных пород [14].

Для улучшения репродуктивных показателей в животноводстве необходимо внедрять современные технологии для оценки качества спермопродукции племенных быков. Более глубокое понимание (на молекулярном уровне) факторов, влияющих на оплодотворение яйцеклетки и развитие эмбрионов у крупного рогатого скота, позволит выявить биомаркеры для отбора быков, обладающих высокой фертильностью.

Цель исследования – изучить подвижность сперматозоидов и целостность ДНК в криоконсервированной сперме быков-производителей в зависимости от направления продуктивности.

Задачи: оценить качественные показатели криоконсервированного семени быков молочного и комбинированного направлений продуктивности сразу после оттаивания, через 1 и 3 ч после оттаивания; изучить уровень фрагментации ДНК сперматозоидов у быков молочных и комбинированных пород.

Объекты и методы. Исследование проведено сотрудниками лаборатории биологии воспроизведения сельскохозяйственных животных ФГБНУ ВНИИплем. Исследование фрагментации ДНК проведено в сотрудничестве с ФГБУ «Государственный научный центр РФ – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России.

Объектом исследований являлась сперма быков-производителей племенных предприятий Российской Федерации.

Для исследования показателей биологической полноценности семени использовали крио-

консервированную традиционную сперму быков (n=87) молочных пород (голландской и ярославской) и комбинированных пород (симментальской и костромской), произведенную отечественными племпредприятиями, входящими в холдинг «ГЦВ». Образцы доставляли в лабораторию в сосуде Дьюара СДС-6-2, заполненном жидким азотом.

Оттаивание криоконсервированного семени проводили в водяной бане при температуре 38 °С в течение 10 секунд согласно протоколу производителя семени. Для анализа подвижности сперматозоидов использовали аналитическую систему CASA Aprus (ООО АргусСофт, Россия) и микроскоп CarlZeissAxiostarplus (CarlZeiss, Германия) с подогреваемым столиком. Оценивали количество сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением (ППД), число мертвых (неподвижных) и сперматозоидов с иными видами подвижности. Сохраняли сперму для оценки переживаемости в термошкафу Memmert INB-200 при температуре 37 °С.

Величину поврежденности ДНК определяли методом электрофореза ДНК иммобилизованных в агарозе единичных клеток – ДНК-комет (щелочная версия) [15]. Для проведения анализа сперму смешивали с теплым фосфатным буфером для получения требуемой концентрации. Затем полученную суспензию смешивали с предварительно расплавленной и охлажденной легкоплавкой агарозой (тип IV), тщательно перемешивали и наносили смесь на предметные стекла, предварительно покрытые слоем 1 % нормоплавкой агарозы. Лизис клеток проводили в специально разработанном лизирующем буфере (300 mMNaOH; 1mM EDTA; 1 % SDS) в течение 20 мин при 37 °С. После лизиса клеток слайды переносили в щелочной раствор (300 mMNaOH; 1 mM EDTA; pH> 13) в камеру для электрофореза на 10 мин. После проведения электрофореза анализировали полученные слайды с помощью флуоресцентного микроскопа Nikon Eclipse Ni-U (Nikon, Япония) с использованием системы визуализации микрофотоизображений «ProgRessHFcool/ComputerPro 2.8.8» (Jenoptic AG, Германия) и программного обеспечения CASP LAB 1.2.2. В качестве критерия целостности ДНК в сперматозоидах (исследовали не менее 100 половых клеток на каждом слайде) оценивали такие показатели, как процент ДНК в хвосте кометы, длина миграции ДНК

в хвосте кометы, момент хвоста кометы и момент хвоста по Оливе.

Результаты и их обсуждение. Нами изучены качественные показатели спермы быков в зависимости от направления продуктивности. Быки были разделены на две группы по направлению продуктивности: молочные (голландская и ярославская породы, $n = 58$) и комбинированные (симментальская и костромская породы, $n = 29$).

Оценивали содержание сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением (ППД), с иными видами подвижности и неподвижных (мертвых) после оттаивания в трех временных точках: сразу после оттаивания (0 ч), через 1 и 3 ч. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Характеристики замороженно-оттаянной спермы быков-производителей
разных направлений продуктивности, %
Characteristics of frozen-thawed semen from breeding bulls of different production types, %**

Подвижность сперматозоидов	Быки молочного направления	Быки комбинированного направления
Сразу после оттаивания		
ППД	48,27±1,896	46,04±1,771
Иные виды подвижности	2,88±0,272	2,17±0,206
Мертвые	46,92±1,886	51,79±1,819
Через 1 ч после оттаивания		
ППД	33,51±1,821	25,31±3,336
Иные виды подвижности	3,03±0,441	1,95±3,336
Мертвые	63,42±1,814	73,91±3,466
Через 3 ч после оттаивания		
ППД	16,05±1,263	12,66±2,829
Иные виды подвижности	3,57±0,689	1,36±0,125
Мертвые	80,37±1,362	86,71±2,884

Установлено, что сразу после оттаивания содержание сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением составило (48,27 ± 1,896) % для молочных пород и (46,04 ± 1,771) % для комбинированных. Через 1 ч показатели снизились до (33,51 ± 1,821) % у молочных пород и (25,31 ± 3,336) % у комбинированных. Через 3 ч количество прогрессивно-подвижных сперматозоидов уменьшается до (16,05 ± 1,263) % для молочных пород и до (12,66 ± 2,829) % для комбинированных. Из данных таблицы 1 видно, что в исследованной нами выборке быки комбинированного направления уступали быкам молочного направления продуктивности по выживаемости сперматозоидов. Статистически значимых различий между группами быков не выявлено. Анализ параметров, характеризующих тип движения сперматозоидов, показал, что в пределах каждой группы отмечается достаточно высокая внутригрупповая вариабельность, особенно через 1 и 3 ч после оттаивания. Для быков молочного направления стандартная ошибка среднего (SEM) по показателю ППД через 1 ч составила 1,821, тогда

как у комбинированных пород она была почти вдвое выше (3,336), что указывает на менее устойчивое качество спермы в данной группе. Подобная динамика наблюдается и в отношении доли мертвых сперматозоидов: у комбинированных пород через 3 ч их количество достигало (86,71 ± 2,884) %, что почти на 6 % выше, чем у молочных ((80,37 ± 1,362) %). Несмотря на отсутствие статистической достоверности различий ($p > 0,05$), биологическая значимость этих результатов очевидна, так как снижение жизнеспособности сперматозоидов даже на 5–10 % может существенно отразиться на эффективности оплодотворения при искусственном осеменении.

Имеется разница по плотности и динамике распределения значений. Наглядно эти данные представлены на рисунках 1, 2. На рисунке 1 представлено распределение сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением сразу после оттаивания, где видно, что у молочных пород распределение более равномерное, а у комбинированных пород отмечается тенденция к большей вариабельности.

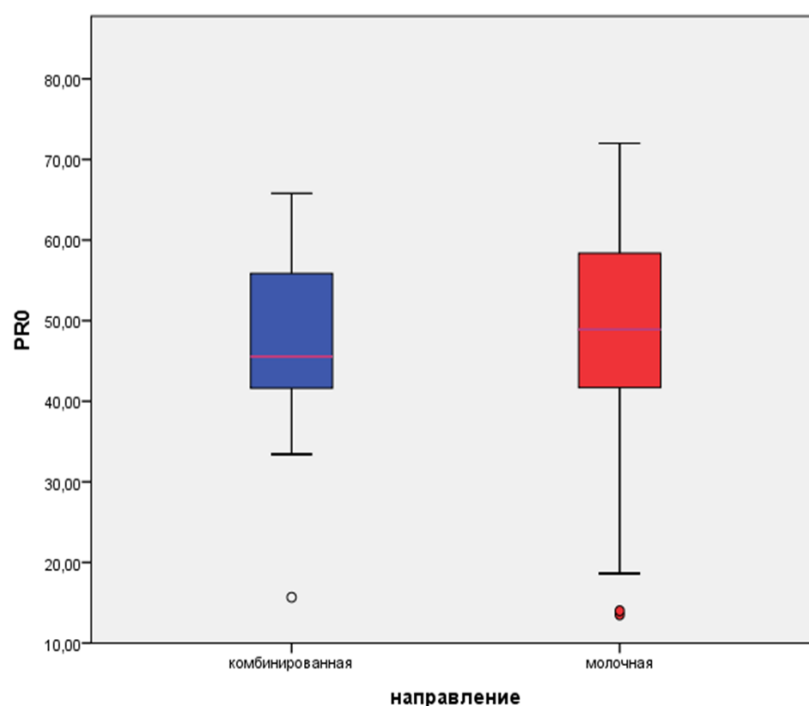


Рис. 1. Распределение сперматозоидов с ППД после оттаивания в зависимости от направления продуктивности

Post-thaw distribution of spermatozoa with progressive motility depending on production type

На рисунке 2, демонстрирующем распределение через 1 ч после оттаивания, различия между группами становятся более выраженными,

у комбинированных пород усиливается разрыв между квантилями.

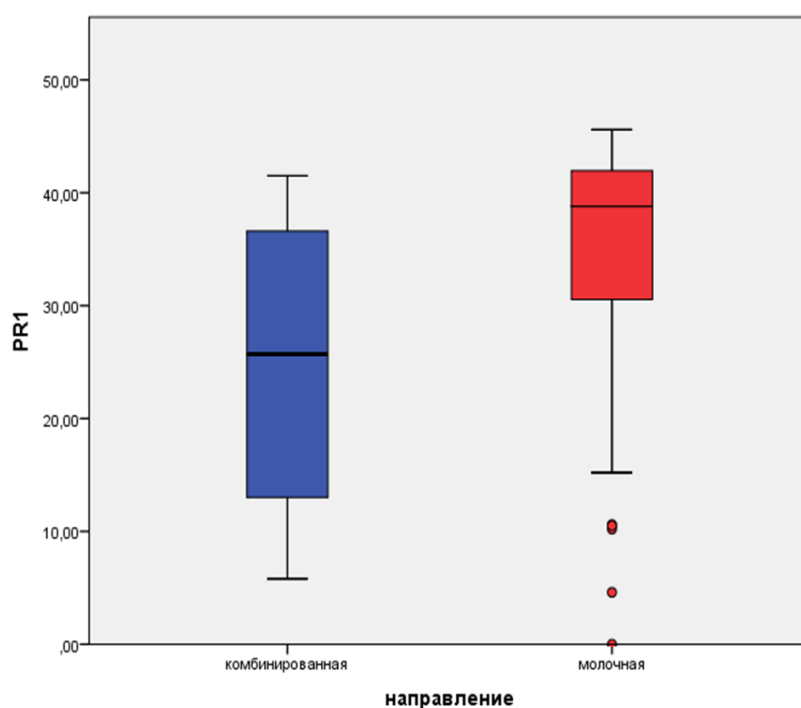


Рис. 2. Распределение сперматозоидов с ППД через час после оттаивания в зависимости от направления продуктивности

Distribution of spermatozoa with progressive motility one-hour post-thaw, depending on production type

Анализ целостности ДНК сперматозоидов (табл. 2) показал, что площадь головы (HeadArea) имеет наибольшее значение в группе быков (скота/быков) молочного направления ($424,267 \pm 0,891$), тогда как в группе животных комбинированного направления продуктивности показатели ниже ($375,630 \pm 1,863$). Площадь хвоста (TailArea) также наиболее велика в груп-

пе быков молочных пород ($48,455 \pm 1,062$), с меньшими значениями у быков комбинированных пород ($20,716 \pm 2,222$).

Более высокое значение содержания ДНК в хвосте (TailDNA) наблюдалось у быков молочных пород ($2,914 \pm 0,056$), у быков комбинированного направления продуктивности этот показатель составил $1,685 \pm 0,116$.

Таблица 2

Показатели, характеризующие состояние ДНК в замороженно-оттаянных сперматозоидах быков-производителей, в зависимости от направления продуктивности
DNA integrity parameters in frozen-thawed spermatozoa of breeding bulls, depending on production type

Зависимая переменная	Группа быков по направлению продуктивности	Среднее, усл. ед.
HeadArea	Комбинированная	$375,630 \pm 1,863$
	Молочная	$424,267^a \pm 0,891$
TailArea	Комбинированная	$20,716 \pm 2,222$
	Молочная	$48,455^a \pm 1,062$
HeadDNA	Комбинированная	$141,951 \pm 0,659$
	Молочная	$153,493^a \pm 0,315$
TailDNA	Комбинированная	$1,685 \pm 0,116$
	Молочная	$2,914^a \pm 0,056$
HeadDNA %	Комбинированная	$98,680 \pm 0,066$
	Молочная	$98,181 \pm 0,032$
TailDNA %	Комбинированная	$1,320 \pm 0,066$
	Молочная	$1,819^a \pm 0,032$
HeadRadius	Комбинированная	$10,707 \pm 0,025$
	Молочная	$11,314^a \pm 0,012$
TailLength	Комбинированная	$3,248 \pm 0,061$
	Молочная	$4,159^a \pm 0,029$
CometLength	Комбинированная	$25,663 \pm 0,088$
	Молочная	$27,786^a \pm 0,042$
HeadMeanX	Комбинированная	$28,362 \pm 0,178$
	Молочная	$30,785^a \pm 0,085$
TailMeanX	Комбинированная	$40,683 \pm 0,180$
	Молочная	$43,743^a \pm 0,086$
TailMoment	Комбинированная	$0,091 \pm 0,024$
	Молочная	$0,291^a \pm 0,012$
OliveTailMoment	Комбинированная	$0,148 \pm 0,016$
	Молочная	$0,289^a \pm 0,007$

Примечания: a, b – обозначения между группами для указания достоверности разницы; a – комбинированная; b – молочная; $P \leq 0,05$.

Процентное содержание ДНК в голове кометы (HeadDNA %) оказалось максимальным у быков комбинированных пород ($98,680 \pm 0,066$). Наибольшее процентное содержания ДНК в хвосте (TailDNA %) показали молочные поро-

ды – $1,819 \pm 0,032$, а комбинированные имели более низкие показатели – $1,320 \pm 0,066$.

Радиус головы (HeadRadius) был больше в группе быков молочного направления ($11,314 \pm 0,012$), в группе быков комбинированного нап-

равления продуктивности HeadRadius составил $10,707 \pm 0,025$.

Длина хвоста (TailLength) и длина кометы (CometLength) были выше у быков молочного направления продуктивности ($4,159 \pm 0,029$ и $27,786 \pm 0,042$ соответственно), тогда как быки комбинированного направления продемонстрировали наименьшие показатели. Координаты центров плотности распределения ДНК в голове (HeadMeanX) и в хвосте (TailMeanX) наибольшие значения имели у быков молочного направления продуктивности ($30,785 \pm 0,085$ и $43,743 \pm 0,086$ соответственно), а наименьшие – у быков комбинированного направления. Наконец, момент хвоста (TailMoment) и момент хвоста по Оливе (OliveTailMoment) подтверждают это распределение, где быки молочных пород имели наибольшие значения ($0,291 \pm 0,012$ и $0,289 \pm 0,007$ соответственно), а комбинированных пород – наименьшие ($0,091 \pm 0,024$ и $0,148 \pm 0,016$).

Сравнительный анализ параметров целостности ДНК показал, что по большинству параметров сперматозоиды быков молочных пород демонстрировали более высокие значения, что может свидетельствовать о лучшей организации и компактизации хроматина. Например, показатели площади головы (HeadArea) и радиуса головы (HeadRadius) статистически значимо выше у быков молочных пород ($p \leq 0,05$), что отражает более плотную упаковку ДНК. При этом стоит отметить, что у молочных пород одновременно выявлена и большая степень повреждений ДНК (TailMoment и CometLength), что указывает на двойственный характер адаптационных механизмов: с одной стороны – высокая степень конденсации хроматина, с другой – повышенная чувствительность к повреждающему воздействию криоконсервирования. Интересным является то, что процентное содержание ДНК в голове (HeadDNA %) оказалось несколько выше у комбинированных пород: $98,680 \pm 0,066$ против $98,181 \pm 0,032$ у молочных. Это, в совокупности с меньшими значениями повреждений (TailMoment, OliveTailMoment), свидетельствует о более стабильной структуре хроматина. Однако практическая сторона вопроса заключается в том, что даже при более целостной ДНК у комбинированных пород резко снижается общее количество подвижных сперматозоидов после замораживания.

Таким образом, быки молочного направления продуктивности характеризуются более высокими значениями большинства параметров в сравнении с быками комбинированных пород. Эти данные демонстрируют влияние направления продуктивности на уровни компактизации ДНК в хроматине сперматозоидов быков-производителей.

Заключение. Наши исследования продемонстрировали влияние направления продуктивности быков-производителей на активность и выживаемость сперматозоидов после замораживания-оттаивания и на уровень поврежденности ДНК. Установлено, что в изученной нами выборке быки комбинированного направления уступали быкам молочного направления продуктивности по выживаемости сперматозоидов. Сразу после оттаивания содержание сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением составило в среднем ($48,27 \pm 1,896$) % для молочных пород и ($46,04 \pm 1,771$) % для комбинированных. Через 1 ч после оттаивания различия в показателях заметно возросли: ($33,51 \pm 1,821$) % сперматозоидов с ППД у молочных пород и ($25,31 \pm 3,336$) % у комбинированных. Через 3 ч количество прогрессивно-подвижных сперматозоидов уменьшилось до ($16,05 \pm 1,263$) и ($12,66 \pm 2,829$) % соответственно для быков молочных и комбинированных пород. Статистически значимых различий между группами быков в подвижности половых клеток не выявлено, однако наблюдалась существенная разница по плотности и динамике распределения значений содержания сперматозоидов с ППД сразу после оттаивания и через час после оттаивания. У производителей молочных пород распределение было более равномерным, а у комбинированных пород отмечалась тенденция к большей вариабельности значений. Наибольшая степень фрагментации ДНК обнаружена в сперме быков-производителей молочного направления продуктивности с показателями: момент хвоста (TailMoment) – $0,291 \pm 0,012$ и длина кометы (CometLength) – $27,786 \pm 0,042$, а быки комбинированных пород отличались меньшими значениями поврежденности ДНК (момент хвоста – $0,091 \pm 0,024$, длина кометы – $25,663 \pm 0,088$). Таким образом, более высокая поврежденность ДНК сперматозоидов отмечалась у быков молочного направления продуктивности. Эти различия следует учитывать при селекционно-племенной работе и разработке технологий криоконсервации спермы. Практическая значи-

мость полученных нами результатов заключается в том, что для быков молочного направления может потребоваться оптимизация криозащитных сред-разбавителей для снижения повреж-

даемости ДНК, а для быков комбинированного направления – улучшение методик, повышающих выживаемость сперматозоидов.

Список источников

1. Roche J.R., Burke C.R., Crookenden M.A., et al. Fertility and the transition dairy cow // *Reproduction, Fertility and Development*. 2018. N 30. P. 85–100. DOI: 10.1071/RD17412.
2. Hasler J.F. Forty years of embryo transfer in cattle: a review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences // *Theriogenology*. 2014. Vol. 81, N 1. P. 152–169. DOI: 10.1016/j.theriogenology2013.09.010.
3. Pardede B.P., Supriatna I., Yudi Y., et al. Decreased bull fertility: age-related changes in sperm motility and DNA fragmentation. In: *E3S Web Conf. The 1st International Conference on Veterinary, Animal, and Environmental Sciences (ICVAES 2019)*. 2020. Vol. 151. DOI: 10.1051/e3s-conf/202015101010.
4. Иолчиев Б.С., Шмидт А.В., Луконина О.Н., и др. Дисперсия хроматина сперматозоидов быков-производителей в зависимости от возраста // *Животноводство и кормопроизводство*. 2024. Т. 107, № 4. С. 255–265. DOI: 10.33284/2658-3135-107-4-255.
5. Нарышкина Е.Н. Вариабельность показателя оплодотворяющей способности семени быков-производителей голштинской породы в племенных и товарных стадах // *Пермский аграрный вестник*. 2021. № 4 (36). С. 124–133. DOI: 10.47737/2307-2873_2021_36_124. EDN: DNXBTP.
6. Холодова Л.В. Анализ оплодотворяющей способности семени быков-производителей разных генотипов. В сб.: *Национальная научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные проблемы интенсификации развития животноводства»*. Брянск: Брянский ГАУ, 2022. С. 23–32. EDN: GDUYUE.
7. Evenson D.P. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) for Fertility Assessment // *Current protocols* 2022. Vol. 2, N 8. P. e508. DOI: 10.1002/cpz1.508.
8. Sharma R., Iovine C., Agarwal A., et al. TUNEL assay – Standardized method for testing sperm DNA fragmentation // *Andrologia*. 2020. Vol. 53. P. 53. DOI: 10.1111/and.13738.
9. Esteves S.C., Zini A., Coward R.M., et al. Sperm DNA fragmentation testing: Summary evidence and clinical practice recommendations // *Andrologia*. 2021. Vol. 53, N 2. P. e13874. DOI: 10.1111/and.13874.
10. Amor H., Zeyad A., Alkhaled Y., et al. Relationship between nuclear DNA fragmentation, mitochondrial DNA damage and standard sperm parameters in spermatozoa of fertile and sub-fertile men before and after freeze-thawing procedure // *Andrologia*. 2018. Vol. 50, N 5. P. e12998. DOI: 10.1111/and.12998.
11. Mohammadi Z., Tavalaee M., Gharagozloo P., et al. Could high DNA stainability (HDS) be a valuable indicator of sperm nuclear integrity? // *Basic Clin. Androl.* 2020. Vol. 30. P. 12. DOI: 10.1186/s12610-020-00110-8.
12. Horta F., Catt S., Ramachandran P., et al. Female ageing affects the DNA repair capacity of oocytes in IVF using a controlled model of sperm DNA damage in mice // *Hum Reprod* 2020. № 35. P. 529–544. DOI: 10.1093/humrep/dez308.
13. Wang B., Li Zh., Wang Ch., et al. Zygotic G2/M cell cycle arrest induced by ATM/Chk1 activation and DNA repair in mouse embryos fertilized with hydrogen peroxide-treated epididymal mouse sperm // *PLoS One*. 2013. Vol. 8. P. e73987. DOI: 10.1371/journal.pone.0073987.
14. Morrell J.M., Valeanu A.S., Lundeheim N., et al. Sperm quality in frozen beef and dairy bull semen // *Acta Vet Scand*. 2018. Vol. 60. P. 41. DOI: 10.1186/s13028-018-0396-2.
15. Collins A., Møller P., Gajski G., et al. Measuring DNA modifications with the comet assay: a compendium of protocols // *Nature Protocols*. 2023. Vol. 18, N 3. DOI: 10.1038/s41596-022-00754-y.

References

1. Roche JR, Burke CR, Crookenden MA, et al. Fertility and the transition dairy cow. *Reprod Fertil Dev.* 2017;30(1):85-100. DOI: 10.1071/RD17412.
2. Hasler JF. Forty years of embryo transfer in cattle: a review focusing on the journal *Theriogenology*, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences. *Theriogenology.* 2014;81(1):152-169. (In Russ.). DOI: 10.1016/j.theriogenology2013.09.010.
3. Pardede BP, Supriatna I, Yudi Y, et al. Decreased bull fertility: age-related changes in sperm motility and DNA fragmentation. In: *E3S Web Conf. The 1st International Conference on Veterinary, Animal, and Environmental Sciences (ICVAES 2019)*. 2020. Vol. 151. DOI: 10.1051/e3sconf/202015101010.
4. Iolchiev B, Schmidt A, Lukonina O, et al. Chromatin dispersion of spermatozoa of stud bulls depending on age. *Animal Husbandry and Fodder Production.* 2025;107:255-265. DOI: 10.33284/2658-3135-107-4-255.
5. Naryshkina EN. Variabel'nost' pokazatelya oplodotvoryayushchej sposobnosti semeni bykov-proizvoditelej golshinskoy porody v plemennyh i tovarnyh stadah. *Permskij agrarnyj vestnik.* 2021;4(36):124-133. (In Russ.). DOI: 10.47737/2307-2873_2021_36_124. EDN: DNXBTP.
6. Holodova LV. Analiz oplodotvoryayushchej sposobnosti semeni bykov-proizvoditelej raznyh genotipov. In: *Nacionalnaya nauchno-prakticheskaya konferenciya s mezhdunarodnym uchastiem "Aktual'nye problem intensivizatsii razvitiya zhivotnovodstva"*. Bryansk: Bryanskij GAU; 2022. P. 23–32. (In Russ.). EDN: GDUYUE.
7. Evenson DP. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) for Fertility Assessment. *Curr Protoc.* 2022;2(8):e508. DOI: 10.1002/cpz1.508.
8. Sharma R, Iovine C, Agarwal A, et al. TUNEL assay – Standardized method for testing sperm DNA fragmentation. *Andrologia.* 2021;53(2):e13738. DOI: 10.1111/and.13738.
9. Esteves SC, Zini A, Coward RM, et al. Sperm DNA fragmentation testing: Summary evidence and clinical practice recommendations. *Andrologia.* 2021;53(2):e13874. DOI: 10.1111/and.13874.
10. Amor H, Zeyad A, Alkhaled Y, et al. Relationship between nuclear DNA fragmentation, mitochondrial DNA damage and standard sperm parameters in spermatozoa of fertile and sub-fertile men before and after freeze-thawing procedure. *Andrologia.* 2018;50(5):e12998. DOI: 10.1111/and.12998.
11. Mohammadi Z, Tavalaee M, Gharagozloo P, et al. Could high DNA stainability (HDS) be a valuable indicator of sperm nuclear integrity? *Basic Clin Androl.* 2020;30:12. DOI: 10.1186/s12610-020-00110-8.
12. Horta F, Catt S, Ramachandran P, et al. Female ageing affects the DNA repair capacity of oocytes in IVF using a controlled model of sperm DNA damage in mice. *Hum Reprod.* 2020;35(3):529-544. DOI: 10.1093/humrep/dez308.
13. Wang B, Li Zh, Wang Ch, et al. Zygotic G2/M Cell Cycle Arrest Induced by ATM/Chk1 Activation and DNA Repair in Mouse Embryos Fertilized with Hydrogen Peroxide-Treated Epididymal Mouse Sperm. *PloS one.* 2013;8:e73987. DOI: 10.1371/journal.pone0073987.
14. Morrell JM, Valeanu AS, Lundeheim N, et al. Sperm quality in frozen beef and dairy bull semen. *Acta Vet Scand.* 2018;60:41. DOI: 10.1186/s13028-018-0396-2.
15. Collins A, Møller P, Gajski G, et al. Measuring DNA modifications with the comet assay: a compendium of protocols. *Nat Protoc.* 2023;18(3):929-989. DOI: 10.1038/s41596-022-00754-y.

Статья принята к публикации 15.10.2025 / The article accepted for publication 15.10.2025.

Информация об авторах:

Светлана Николаевна Ушакова, старший научный сотрудник лаборатории биологии воспроизведения сельскохозяйственных животных, кандидат биологических наук

Байлар Садраддинович Иолчиев, ведущий научный сотрудник лаборатории биологии воспроизведения сельскохозяйственных животных, доктор биологических наук

Дмитрий Владимирович Машталер, старший научный сотрудник лаборатории биологии воспроизведения сельскохозяйственных животных, кандидат сельскохозяйственных наук

Ирина Евгеньевна Приданова, старший научный сотрудник лаборатории биологии воспроизведения сельскохозяйственных животных, кандидат биологических наук

Татьяна Анатольевна Мороз, старший научный сотрудник лаборатории биологии воспроизведения сельскохозяйственных животных, кандидат биологических наук

Information about the authors:

Svetlana Nikolaevna Ushakova, Senior Researcher, Laboratory of Reproduction Biology of Farm Animals, Candidate of Biological Sciences

Bailar Sadraddinovich Iolchiev, Leading Researcher, Laboratory of Reproduction Biology of Farm Animals, Doctor of Biological Sciences

Dmitry Vladimirovich Mashtaler, Senior Researcher, Laboratory of Reproduction Biology of Farm Animals, Candidate of Agricultural Sciences

Irina Evgenyevna Pridanova, Senior Researcher, Laboratory of Reproduction Biology of Farm Animals, Candidate of Biological Sciences

Tatyana Anatolyevna Moroz, Senior Researcher, Laboratory of Reproduction Biology of Farm Animals, Candidate of Biological Sciences

