



Влияние породы и генеалогической линии на показатели спермопродукции и разнообразие морфологических форм сперматозоидов у быков-производителей

М.А. Клещев¹✉, В.Л. Петухов², Л.В. Осадчук¹

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
² Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

В настоящее время значительное внимание уделяется изучению генетической регуляции процессов адаптации сельскохозяйственных животных к условиям окружающей среды. Эта проблема актуальна в связи с широким распространением в различных регионах мира высокопродуктивных пород крупного рогатого скота, созданных в Европе и Северной Америке. Однако до сих пор не изучались изменения в количестве и качестве сперматозоидов быков-производителей пород зарубежной селекции при их адаптации в эколого-климатических условиях Западной Сибири. Цель работы – исследовать особенности качества эякулята и разнообразие морфологических аномалий сперматозоидов у быков-производителей пород зарубежной и отечественной селекции в эколого-климатических условиях юга Западной Сибири. У 44 быков (племпредприятие «Барнаульское», Алтайский край) черно-пестрой, симментальской, англеской и красной датской пород оценивали объем эякулята, концентрацию и общее количество сперматозоидов в эякуляте, долю подвижных и морфологически аномальных половых клеток, определяли встречаемость различных типов аномалий строения сперматозоидов. Установлено, что средние значения концентрации сперматозоидов в эякуляте, доли подвижных и морфологически аномальных сперматозоидов в изученной выборке быков близки к таковым у быков, содержащихся в странах Европы. Межпородных различий по данным показателям не обнаружено. Однако быки группы красных пород (красной датской, англеской) и симментальской породы отличались от быков черно-пестрой породы повышенной встречаемостью аморфных и грушевидных головок сперматозоидов соответственно. При сравнительном анализе показателей качества спермы у быков разных линий черно-пестрой породы установлено, что подвижность сперматозоидов у быков линии Рефлекшн Соверинга 198998 была ниже, чем у быков линии В.Б. Айдиала 1013415. Межлинейных различий по концентрации сперматозоидов в эякуляте, доле морфологически аномальных сперматозоидов, а также встречаемости отдельных типов аномалий сперматозоидов не отмечено. Таким образом, природно-климатические условия юга Западной Сибири не оказывают негативного влияния на продукцию сперматозоидов, а также на содержание подвижных и морфологически нормальных половых клеток в эякуляте у быков. Однако повышенная встречаемость аморфных и грушевидных головок сперматозоидов у быков зарубежной селекции указывает на возможные риски развития у них субфертильности и необходимость исследования фрагментации ДНК сперматозоидов.

Ключевые слова: быки; количество сперматозоидов; подвижность сперматозоидов; морфология сперматозоидов; фертильность; окружающая среда; порода; линия.

Semen quality and diversity of morphological sperm abnormalities in bulls: breed and strain effects

M.A. Kleshchev¹✉, V.L. Petukhov², L.V. Osadchuk¹

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia
² Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

At present great attention is paid to studying genetic regulation of farm animal adaptations to environmental conditions. This problem is very important due to a wide expansion of highly productive cattle breeds created in Europe and North America. However, until the present no investigation of changing semen quality in bulls of imported breeds during their adaptations to environmental conditions of Western Siberia has been conducted. The aim of this study was to investigate semen quality peculiarities and the diversity of morphological sperm abnormalities in bulls of imported and local breeds kept in the environmental conditions of the southern part of Western Siberia. We determined sperm concentration, sperm count, and rate of sperm with progressive motility and percentage of morphologically normal spermatozoa. The rate of sperm abnormalities according to Blome's classification was determined too. It was found that the mean values of sperm concentration, sperm motility and percentage of morphologically normal spermatozoa in the bulls investigated were similar to those in bulls kept in European countries. Inter-breed differences in these parameters were not found. However, bulls of the Red Danish, Angler, and Simmental breeds had a higher percentage of misshapen sperm head and pyriform sperm head than bulls of the Black-White breed. An inter-strain difference in sperm motility in bulls of the Black-White breed was observed. It was found that bulls of Reflection Sovereign 198998 strain had lower sperm motility than bulls of Wis Burke Ideal 1013415 strain. No inter-strain differences in sperm production, percentage of morphologically normal spermatozoa and rate of main sperm abnormalities were found. Thus, it has been found that the environmental conditions of the southern part of Western Siberia do not seriously affect the sperm production, sperm motility or percentage of morphologically normal spermatozoa

in bulls. However, the increased rate of misshapen and pyriform sperm heads in the bulls of the foreign breeds points to a need to study sperm DNA fragmentation.

Key words: bulls; sperm count; sperm motility; sperm morphology; fertility; environment; breed; strain.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Клещев М.А., Петухов В.Л., Осадчук Л.В. Влияние породы и генеалогической линии на показатели спермопродукции и разнообразие морфологических форм сперматозоидов у быков-производителей. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(8):931-938. DOI 10.18699/VJ18.435

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Kleshchev M.A., Petukhov V.L., Osadchuk L.V. Semen quality and diversity of morphological sperm abnormalities in bulls: breed and strain effects. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(8):931-938. DOI 10.18699/VJ18.435 (in Russian)

В настоящее время значительное внимание уделяется изучению механизмов адаптации сельскохозяйственных животных к неблагоприятным условиям окружающей среды в связи с распространением в различных регионах мира с разнообразными эколого-климатическими условиями ограниченного числа высокопродуктивных пород крупного рогатого скота, созданных в Европе и Северной Америке (Canario et al., 2013). Такая адаптация отражается на функционировании всех органов и систем, в том числе и на сперматогенной функции семенников, поскольку сперматогенез является сложным процессом, чувствительным к изменениям окружающей среды и здоровья животного (Ому, 2013). Установлено, что способность животных разных генотипов адаптироваться к неблагоприятным условиям окружающей среды не одинакова (Porto-Neto et al., 2014). Генетические различия по адаптационной способности животных, вероятно, могут быть одной из причин межпородных различий по количеству производимых сперматозоидов, их подвижности, морфологии (Menon et al., 2011), устойчивости сперматозоидов к криоконсервации (Ntemka et al., 2016), которые наблюдаются у быков производителей.

Изучение животных разных пород, перемещаемых в эколого-климатические условия, отличные от тех, где эти породы формировались, и сравнение их с местными породами может быть полезным для понимания генетической регуляции процессов, происходящих при адаптации репродуктивной системы к неблагоприятным условиям. Такие исследования в настоящее время проводятся в тропических и субтропических странах, где тепловой стресс приводит к снижению качества и количества сперматозоидов у быков-производителей (Koivisto et al., 2009; Menegassi et al., 2016).

Для осеменения коров в Сибири, как и во всем мире, широко используется сперма быков высокопродуктивных пород, импортируемых из стран Западной Европы (Ильин, 2012). Однако территория Западной Сибири отличается от территории Европы резко континентальным климатом, для которого характерна холодная продолжительная зима, но жаркое лето, значительные колебания температуры воздуха в течение года и в течение суток. Кроме этого, своеобразие геологического строения Западно-Сибирской равнины, особенности хозяйственного использования территории и техногенное загрязнение окружающей среды оказывают влияние на микроэлементный состав корма

и воды. Так, из-за истощения плодородия почв на юге Западной Сибири усиливается дефицит в кормах ряда эссенциальных макро- и микроэлементов, в частности цинка (Сысо, Ильин, 2008), который необходим для формирования и функционирования семенников, стабилизации хроматина сперматозоидов, антиоксидантной защиты половых клеток (Björndahl, Kvist, 2010). Таким образом, климат, недостаток важных микроэлементов и другие неблагоприятные факторы могут оказывать негативное влияние на качество спермы быков, особенно представителей пород зарубежной селекции, которые могут быть слабо адаптированы к местным условиям. Однако изменения в сперматогенных параметрах при адаптации животных европейской селекции в эколого-географических условиях Сибири не получили должного внимания. В настоящее время имеются лишь единичные работы, посвященные исследованию количества и качества сперматозоидов (Четвертакова, 2012; Зенков, Топурия, 2014) у быков пород отечественной селекции и импортных животных, которые позволили установить наличие межпородных и межлинейных различий по сперматогенным параметрам.

При этом значительный теоретический и практический интерес представляет изучение встречаемости различных морфологических аномалий сперматозоидов, поскольку они могут служить относительно простым маркером нарушений спермиогенеза, в том числе в результате влияния неблагоприятных экологических факторов. Нарушения в процессе спермиогенеза приводят не только к изменению формы половых клеток, но и к повышению фрагментации ДНК сперматозоидов, что может обуславливать нарушения в развитии эмбриона (Evenson, 2016). Поэтому исследование морфологических аномалий сперматозоидов важно для прогноза фертильности быков-производителей и дает информацию о возможных причинах ее снижения (Fregneau et al., 2010).

Цель работы – изучить спермопродукцию, подвижность сперматозоидов и разнообразие морфологических аномалий половых клеток у быков-производителей различных пород зарубежной селекции и отечественной черно-пестрой породы, проживающих в эколого-климатических условиях Западной Сибири. Дополнительно проводили сравнение двух генеалогических линий (Вис Бис Айдиал 1013415 и Рефлекшн Соверинг 198998) черно-пестрой породы по всем перечисленным выше показателям.

Материалы и методы

Животные. Исследование проводилось в сентябре–октябре 2015 г. в ОАО племпредприятие «Барнаульское» (Алтайский край, г. Барнаул). Было изучено 44 быка-производителя в возрасте от 2 до 10 лет. Животные принадлежали к англеской ($n = 6$), красной датской ($n = 5$), симментальской ($n = 10$) и черно-пестрой ($n = 23$) породам. Быки черно-пестрой породы относились к приобскому ($n = 20$) и ленинградскому ($n = 3$) типам этой породы. При анализе данных близкородственные англеская и красная датская породы были объединены в группу красных пород ($n = 11$). Изученные животные принадлежали к 13 генеалогическим линиям, крупнейшие из которых – линии Вис Бис Айдиал 1013415 и Рефлекшн Соверинг 198998. Быки поступили на предприятие в возрасте 1–2 лет и прожили там в среднем 4.7 года. Животные были закуплены в Германии (все быки англеской и 3 быка симментальской породы), Дании (красная датская порода), Австрии (7 быков симментальской породы) и на племенных хозяйствах Алтайского края и Ленинградской области (черно-пестрая порода).

Быки находились на стойловом содержании в крытых вентилируемых помещениях, животным предоставлялся ежедневный моцион. Кормление осуществляли комбикормом производства ОАО «Барнаульское» (Ильин, 2012).

Получение и анализ эякулята. От каждого быка получали три эякулята один раз в неделю, которые затем объединяли. Отбор проб эякулята производили в соответствии с ГОСТ 20909.1-75 с использованием искусственной вагины в стерильный пластиковый спермоприемник. Эякулят исследовали в течение 30 мин после получения. Общий объем полученной спермы определяли, взвешивая эякулят на электронных весах ЕК-2001 и принимая, что 1 мл эякулята весит 1 г. Далее аликвоту спермы разводили 3 % раствором лимоннокислого натрия в 10 раз. В полученной суспензии определяли суммарную долю прогрессивно подвижных сперматозоидов, используя анализатор фертильности спермы АФС 500-2 (НПФ «Биола», Москва).

Концентрацию сперматозоидов определяли в камере Горяева под световым микроскопом (при увеличении $\times 200$) после окраски аликвоты суспензии сперматозоидов трипановым синим в течение ночи. Полученный результат пересчитывали на 1 мл нативного эякулята.

Для исследования морфологии сперматозоидов аликвоту нативного эякулята разводили фосфатным буфером в 10 раз и делали мазок на предметном стекле. Мазки высушивали на воздухе и фиксировали метанолом в течение 2 мин. Фиксированные и высушенные на воздухе мазки окрашивали красителем Гимзы («Биовитрум», Санкт-Петербург) в соответствии с инструкцией производителя. После окраски препарат заключали в канадский бальзам. Исследовали первые 200 сперматозоидов под световым микроскопом при увеличении $\times 1000$ с масляной иммерсией. Морфологически нормальным считался сперматозоид, у которого головка, средняя часть и хвост соответствовали определенным критериям (Норрег, King, 2014). Остальные сперматозоиды относили к аномальным.

По месту расположения аномалии сперматозоид отнесли к одной из следующих групп: аномалии головки,

средней части, хвоста, сочетанные аномалии головки и хвоста, головки и средней части, средней части и хвоста, а также сочетанные аномалии головки, средней части и хвоста (тройные). На основании этих данных рассчитывали индекс тератоспермии (TZI), который представляет собой отношение числа выявленных аномалий к числу дефектных сперматозоидов.

По форме и размеру головки, средней части и хвоста сперматозоид относили к одной из 21 группы в соответствии с классификацией Блома (Ball, Peters, 2004). Рассчитывали долю каждого дефекта от общего числа просчитанных сперматозоидов (частота встречаемости). Аномалии, частота встречаемости которых составляла менее 1 %, считались минорными, и данные по ним не представлены.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета компьютерных программ STATISTICA (версия 6.0), проверку на нормальность распределения производили по критерию Колмогорова–Смирнова. Для данных, имеющих нормальное распределение (вес тела, объем спермы, общее количество сперматозоидов, концентрация сперматозоидов в эякуляте, доля подвижных сперматозоидов, доля морфологически аномальных сперматозоидов), проводили однофакторный дисперсионный анализ. Факторами являлись порода (при сравнении пород животных) и линия (при анализе межлинейных различий у быков черно-пестрой породы). Для сравнения групп в рамках дисперсионного анализа использовали тест множественного сравнения Дункана. Для данных, имеющих распределение, отличающееся от нормального, сравнивали группы с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$. Для всех исследуемых параметров высчитывали среднее арифметическое и его ошибку.

Результаты

Сперматогенные и морфометрические показатели

Однофакторный дисперсионный анализ показал отсутствие генерального влияния породы ($F_{2; 41} = 2.57, p = 0.089$) на вес тела быков (табл. 1). Однако масса тела быков симментальской породы оказалась достоверно выше, чем масса тела быков группы красных пород ($p < 0.05$, тест Дункана).

Однофакторный дисперсионный анализ показал достоверное ($F_{1; 18} = 13.47, p < 0.05$) влияние генеалогической линии на вес тела быков черно-пестрой породы (табл. 2). Потомки В.Б. Айдиала весили достоверно выше, чем потомки Р. Соверинга ($p < 0.01$, тест Дункана).

Не установлено достоверного влияния породы на общий объем эякулята, общее количество сперматозоидов, долю подвижных и долю аномальных сперматозоидов, а также индекс тератоспермии (см. табл. 1). Однако доля аномальных сперматозоидов у быков симментальской породы была выше, чем у быков черно-пестрой породы на уровне тенденции ($p < 0.07$, тест Дункана). По другим показателям качества эякулята достоверных межпородных различий не отмечалось.

Однофакторный дисперсионный анализ позволил установить достоверное влияние линии ($F_{1; 18} = 8.44, p < 0.01$)

Table 1. Body weight and sperm quality in bulls of different breeds

Index	Breeds		
	Black Pied	Simmental	Red breeds
Body weight, kg	930.35 ± 25.65	1011.70 ± 24.01 ^a	900.27 ± 40.57
Total ejaculate volume, mL	12.70 ± 0.99	11.60 ± 1.31	11.45 ± 1.49
Total sperm number, bn	12.34 ± 0.93	12.78 ± 1.61	14.1 ± 2.38
Sperm concentration, bn/mL	1.01 ± 0.08	1.10 ± 0.08	1.17 ± 0.12
Progressive sperm motility, %	80.97 ± 1.49	77.93 ± 2.11	75.96 ± 2.90
Total abnormal sperm, %	13.30 ± 1.33	18.20 ± 2.29	16.52 ± 1.18
Teratozoospermia index (TZI)	1.05 ± 0.01	1.05 ± 0.02	1.07 ± 0.02

^a Differences between the Simmental and red breeds are significant at ($p < 0.05$).

Table 2. Age, body weight, and sperm quality in bulls of different strains

Index	Strains	
	V. B. Eidial	R. Sovering
Age, month	62.38 ± 6.84	47.46 ± 6.30
Body weight, kg	998.78 ± 20.58	842.27 ± 34.58 ^{aa}
Total ejaculate volume, mL	10.33 ± 0.96	13.91 ± 1.75
Total sperm number, bn	10.28 ± 1.26	13.50 ± 1.50
Sperm concentration, bn/mL	1.03 ± 0.16	1.02 ± 0.10
Progressive sperm motility, %	84.56 ± 1.90	76.48 ± 1.96 ^{aa}
Total abnormal sperm, %	12.56 ± 2.32	14.18 ± 2.07
Teratozoospermia index (TZI)	1.05 ± 0.01	1.04 ± 0.02

^{aa} Significance of interstrain differences ($p < 0.01$).

на долю прогрессивно подвижных сперматозоидов у быков черно-пестрой породы (см. табл. 2). У потомков В.Б. Айдиала доля подвижных сперматозоидов оказалась достоверно выше ($p < 0.01$, тест Дункана), чем у потомков Р. Соверинга.

Межлинейных различий по объему эякулята, концентрации и общему количеству сперматозоидов в эякуляте, доле аномальных сперматозоидов и индексу тератоспермии не отмечено.

Разнообразие морфологических форм сперматозоидов

Среди аномалий строения половых клеток обследованных быков-производителей преобладали одиночные дефекты головки и хвоста, реже встречались аномалии средней части. Доля сочетанных аномалий в разных частях сперматозоида не превышала одного процента (табл. 3 и 4).

Среди аномалий головки преобладали аморфные головки, относительно часто встречались также головки с грушевидной формой и отдельно лежащие головки (см. табл. 3 и 4). Доля остальных аномалий головки, таких как узкая, коническая, большая, маленькая, вакуолизирующая, с аномалиями строения акросомной области, не превышала одного процента (данные не представлены).

Среди дефектов шейки и средней части преобладали склоненная головка (головка с изогнутой средней частью)

и асимметричное прикрепление жгутика сперматозоида к головке. Доля остальных аномалий шейки и средней части не превышала одного процента.

Среди аномалий хвоста преобладали сперматозоиды со шпилькообразным хвостом. Остальные аномалии строения хвоста (закрученный и короткий хвост, наличие дистальной цитоплазматической капли) были минорными.

При анализе встречаемости аномалий строения сперматозоидов у быков разных пород (см. табл. 3) установлено, что частота нарушений строения головки сперматозоида у быков симментальской породы была достоверно выше ($p < 0.01$, критерий Манна–Уитни), чем у быков черно-пестрой породы, главным образом за счет грушевидной головки.

Встречаемость грушевидной головки у быков симментальской породы была достоверно выше ($p < 0.05$, критерий Манна–Уитни), чем у быков черно-пестрой породы. Быки группы красных пород характеризовались достоверно более высокой ($p < 0.05$, критерий Манна–Уитни) встречаемостью аномалий средней части сперматозоида по сравнению с животными симментальской и черно-пестрой пород. Быки красных пород отличались от быков черно-пестрой породы более высокой ($p < 0.01$, критерий Манна–Уитни) встречаемостью сочетанных аномалий средней части и головки, а также тройных аномалий. Кроме того, у быков красных пород аморфная головка сперма-

Table 3. Occurrence (%) of different sperm defects in bulls of different breeds

Defect category	Breeds		
	Black Pied	Simmental	Red breeds
Classification according to location of defects			
Head	4.98 ± 0.56	8.30 ± 0.86 ^{aa}	6.32 ± 0.73
Midpiece	2.45 ± 0.35	1.95 ± 0.47 ^b	3.73 ± 0.51 ^c
Tail	5.38 ± 0.93	7.10 ± 1.31	5.52 ± 0.82
Multiple anomalies			
Head and midpiece	0.08 ± 0.04	0.35 ± 0.17	0.36 ± 0.09 ^{cc}
Head and tail	0.28 ± 0.08	0.35 ± 0.17	0.32 ± 0.18
Midpiece and tail	0.11 ± 0.05	0.00	0.00
Head, midpiece and tail	0.05 ± 0.03	0.15 ± 0.10	0.27 ± 0.08 ^{cc}
Classification according to shape and size			
Amorphous head	2.12 ± 0.28	3.35 ± 0.66	3.36 ± 0.46 ^c
Pyriform head	1.50 ± 0.40	3.35 ± 0.79 ^a	1.57 ± 0.57
Detached head	1.58 ± 0.35	2.90 ± 1.16	1.89 ± 0.59
Bent neck	1.42 ± 0.39	1.05 ± 0.28	2.07 ± 0.50
Asymmetrically attached tail	1.34 ± 0.23	1.05 ± 0.50	2.09 ± 0.57
Coiled tail	4.10 ± 0.82	5.00 ± 0.83	3.89 ± 0.74

Notes: Significance of differences ^{aa} ($p < 0.01$) and ^a ($p < 0.05$) significance of differences between Simmental and Black Pied breeds; ^b between Simmental and red breeds ($p < 0.05$); ^{cc} ($p < 0.01$) and ^c ($p < 0.05$) between red breeds and Black Pied breed.

тозоида встречалась достоверно чаще ($p < 0.05$, критерий Манна–Уитни), чем у быков черно-пестрой породы.

При анализе встречаемости аномалий сперматозоидов у быков разных линий черно-пестрой породы установлено, что у потомков Р. Соверинга сочетанные аномалии средней части и хвоста встречаются чаще ($p < 0.05$, критерий Манна–Уитни), чем у потомков В.Б. Айдиала (см. табл. 4). Межлинейных отличий по частоте встречаемости других типов аномалий сперматозоидов (как по форме, так и по месту расположения в сперматозоиде) не отмечено.

Обсуждение

Проведено комплексное исследование основных показателей качества эякулята у импортных быков пород зарубежной селекции, содержащихся в эколого-климатических условиях Западной Сибири несколько лет, и у быков черно-пестрой породы, хорошо адаптированных к местным условиям (Жоростелева, Рудишина, 2007). Продукция сперматозоидов, их подвижность и встречаемость аномальных половых клеток у быков, импортированных из Западной Европы, не отличались от таковых у быков черно-пестрой породы. Средние значения всех этих показателей у животных в исследованной выборке оказались близки к таковым у быков, разводимых в европейских странах (табл. 5). Средние значения концентрации сперматозоидов в эякуляте, доли подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов у животных в изученной выборке быков находились в пределах, установленных российским Государственным стандартом (ГОСТ 23745-79) для свежеполученной спермы быков, пригодной для дальнейшего замораживания (см. табл. 5).

Table 4. Occurrence (%) of different sperm defect in bulls of different strains of the Black Pied breed

Index	Strains	
	V. B. Eidial	R. Sovering
Classification according to location of defects		
Head	4.53 ± 0.58	5.30 ± 1.01
Midpiece	2.31 ± 0.58	2.64 ± 0.58
Tail	5.28 ± 1.82	5.75 ± 1.29
Multiple anomalies		
Head and midpiece	0.08 ± 0.06	0.00
Head and tail	0.39 ± 0.14	0.18 ± 0.10
Midpiece and tail	0.00	0.23 ± 0.10 ^a
Head, midpiece and tail	0.03 ± 0.03	0.09 ± 0.06
Classification according to shape and size		
Amorphous head	2.28 ± 0.38	1.75 ± 0.36
Pyriform head	1.17 ± 0.25	1.77 ± 0.80
Detached head	0.92 ± 0.27	2.09 ± 0.66
Bent neck	1.36 ± 0.68	1.50 ± 0.62
Asymmetrically attached tail	1.50 ± 0.54	1.34 ± 0.19
Coiled tail	3.44 ± 1.45	4.93 ± 1.24

^a significance of interstrain differences ($p < 0.05$).

Table 5. Comparison of data on sperm quality in studied bulls with those in bulls from other countries and the Russian Government Standard

Country, reference	Breeds	Sperm concentration, bn/ml	Percentage of sperm, %	
			progressive sperm motility	total normal sperm
Russia, Altai region, our data	Angler, Danish Red, Black Pied, Simmental	1.10 ± 0.05	79.03 ± 1.19	84.78 ± 0.95
Netherlands (Holfack et al., 2007)	Holstein-Friesian	No data	68.9 ± 11.7	79.7 ± 7.0
Sweden (Al-Makxoomi et al., 2009)	Swedish Red	1.25 ± 2.1	71.8 ± 3.0	84.9 ± 10.7
Poland (Hering et al., 2014b)	Holstein-Friesian	1.28 ± 0.01	56.94 ± 0.51	No data
Austria (Fuerst-Waltl et al., 2006)	Simmental	1.2 ± 0.3	66.5 ± 5.3	No data
Russian Government Standard (No. 23745-79)		0.8	70	82

Notes. The data on studied breeds are combined. The data are presented as mean value ± error of the mean.

В других странах при оценке пригодности быков к разведению оценивают долю прогрессивно подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов. Пороговые значения этих показателей различаются в разных странах и колеблются от 30 до 70 % для доли подвижных сперматозоидов и от 70 до 75 % для доли морфологически нормальных сперматозоидов (Ball, Peters, 2004). Таким образом, средние значения качества эякулята у обследованных нами животных пород зарубежной и отечественной селекции соответствуют российским и зарубежным нормам по качеству спермы быков-производителей. Полученные данные говорят о том, что животные зарубежных англеской, красной датской, симментальской пород достаточно быстро адаптируются к эколого-климатическим условиям Западной Сибири и в полной мере реализуют свой наследственный потенциал в отношении качества эякулята.

Однако в результате детального изучения морфологического строения сперматозоидов было установлено, что быки симментальской и красных пород отличаются от животных черно-пестрой породы повышенной встречаемостью отдельных аномалий головки сперматозоида. Быки группы красных пород отличались повышенной встречаемостью аморфных головок сперматозоидов, а животные симментальской породы – грушевидных головок. В соответствии с классификацией Блома, аморфная и грушевидная головка относятся к группе так называемых мажорных аномалий (Ball, Peters, 2004). Присутствие таких сперматозоидов в эякуляте свидетельствует о серьезных нарушениях в сперматогенезе и отрицательно коррелирует с фертильностью животных (Enciso et al., 2011). Это обусловлено тем, что такие сперматозоиды не способны преодолеть женский репродуктивный тракт из-за нарушенной геометрии головки и сниженной подвижности. Кроме того, даже морфологически нормальные сперматозоиды в образце эякулята с повышенным числом мажорных аномалий сперматозоидов, таких как аморфная головка (Saacke, 2008) и дефекты строения акросомной области (Thundathil et al., 2000), обладают сниженной

оплодотворяющей способностью. Авторы полагают, что повышение встречаемости подобных аномалий в эякуляте является маркером повышения частоты нарушений упаковки хроматина и целостности ДНК сперматозоидов. Оплодотворение яйцеклетки сперматозоидом с поврежденной ДНК приводит к нарушению развития эмбриона. Поэтому даже небольшое возрастание встречаемости аморфной и грушевидной головки у быков красных пород и симментальской породы может свидетельствовать о риске развития у них субфертильности, несмотря на нормальные значения показателей подвижности и спермопродукции. Полученные данные указывают на необходимость изучения целостности хроматина и фрагментации ДНК сперматозоидов у быков-производителей, используемых на территории Западной Сибири.

В результате сравнительного анализа показателей качества эякулята быков, принадлежащих к двум линиям черно-пестрой породы, установлено, что потомки Р. Соверинга обладали более низкой долей подвижных сперматозоидов, чем потомки В.Б. Айдиала, однако остальные параметры качества спермы, включая встречаемость разных морфологических аномалий сперматозоидов, у этих животных не различались. Причины подобного изолированного снижения подвижности сперматозоидов у быков линии Р. Соверинга неясны. Поскольку быки содержались в племенном хозяйстве в одинаковых условиях и достоверных межлинейных различий по возрасту животных не отмечено, то установленные различия по подвижности сперматозоидов, вероятно, имеют генетическую природу. Движение сперматозоида зависит от согласованной работы значительного количества белков, которые участвуют в обеспечении движущихся сперматозоидов энергией, входят в состав аксонемы и внешней оболочки хвоста сперматозоида, а также являются компонентами сигнальных путей, регулирующих подвижность (Ashrafzadeh et al., 2013). Исследования SNP и полногеномный анализ ассоциаций у быков-производителей позволили установить большое количество генов, мутации в которых могут быть причиной сниженной подвижности

сперматозоидов. К таким генам относятся, например, гены *CatSper*, контролирующие белки катионных каналов сперматозоидов (Sivakumar et al., 2018), ген *MARCH1*, кодирующий убиквитин-лигазу (Liu et al., 2017), которая необходима для нормального протекания спермиогенеза, и др. Полногеномный анализ ассоциаций у голштино-фризских быков в Польше позволил выявить 20 значимых SNP, расположенных на 12 аутосомах и ассоциированных со сниженной подвижностью сперматозоидов (Hering et al., 2014a). Не исключено, что полиморфизмы в этих или каких-либо других генах стали причиной межлинейных различий у быков черно-пестрой породы, однако их идентификация требует дальнейшего изучения.

Таким образом, комплексное исследование качества спермы быков-производителей и сравнение полученных данных с литературными сведениями позволяет предполагать, что природно-климатические условия юга Западной Сибири не оказывают существенного негативного влияния на продукцию сперматозоидов, а также на содержание подвижных и морфологически нормальных половых клеток в эякуляте.

В результате исследования показано влияние генеалогической линии на долю подвижных сперматозоидов у быков-производителей черно-пестрой породы. Межпородных различий по спермопродукции и подвижности сперматозоидов не установлено, но животные симментальской, англеской и красной датской пород отличались от быков черно-пестрой породы повышенной встречаемостью аморфных и грушевидных головок сперматозоидов. Эти аномалии строения сперматозоидов могут быть ассоциированы с повышением фрагментации ДНК в половых клетках. Полученные данные указывают на то, что детальная оценка морфологии сперматозоидов и фрагментации ДНК в половых клетках может быть полезной при рутинной оценке качества эякулята быков-производителей в животноводстве.

Acknowledgements

This study was supported by the Russian Science Foundation, project 15-16-30003.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

Зенков П.М., Топурия Л.Ю. Влияние генотипа на показатели спермопродукции быков-производителей. Изв. Оренб. гос. аграр. ун-та. 2014;3:103-105.
[Zenkov P.M., Topuriya L.Y. Effect of genotype on sperm production in sires. Izvestija Orenburgskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta = Proceedings of the Orenburg State Agrarian University. 2014;3:103-105. (in Russian)]
Ильин В.В. ОАО Племпредприятие «Барнаулское». Новосибирск, 2012.
[Il'in V.V. Breeding Farm Barnaulskoe. Novosibirsk, 2012. (in Russian)]
Коростелева Н.И., Рудишина Н.М. История создания и современное состояние алтайской популяции приобского молочного типа скота черно-пестрой породы. Вестн. Алт. гос. аграр. ун-та. 2007;29(3):30-38.

[Korosteleva N.I., Rudishina N.M. The breeding history modern state of the Altai population of the Black Pied dairy cattle breed in the Ob area. Vestnik Altayskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta = Bulletin of the Altai State Agricultural University. 2007; 29(3):30-38. (in Russian)]
Сысо А.И., Ильин В.Б. Эколого-агрохимическая оценка содержания микроэлементов в почвах и растительной продукции на юге Западной Сибири. Проблемы агрохимии и экологии. 2008;3: 33-36.
[Syso A.I., Il'in V.B. Ecological and agrochemical assessment of microelement contents of in soils and plant products in southern West Siberia. Problemy Agrokhimii i Ekologii = Issues of Agrochemistry and Ecology. 2008;(3):33-36. (in Russian)]
Четвертакова Е.В. Влияние зимне-весеннего периода года на долю аномальных форм сперматозоидов в нативной и криоконсервированной сперме голштиинских быков-спермодоноров. Вестн. Краснояр. гос. аграр. ун-та. 2012;(8):118-122.
[Chetvertakova E.V. Winter-spring season influence on the percentage of aberrant sperm cells in native and cryopreserved sperm of Holstein sperm donors. Vestnik KrasGAU = Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University. 2012;(8):118-122. (in Russian)]
Al-Makhzoomi A., Lundeheim N., Haard M., Rodriguez-Martinez H. Sperm morphology and fertility of progeny-tested AI dairy bulls in Sweden. Theriogenology. 2008;70(4):682-691. DOI 10.1016/j.theriogenology.2008.04.049.
Ashrafzadeh A., Karsani S.A., Nathan S. Mammalian sperm fertility related proteins. Int. J. Med. Sci. 2013;10(12):1649-1657. DOI 10.7150/ijms.6395.
Ball P., Peters A.R. Reproduction in cattle. Oxford: Blackwell Publ. Ltd, 2004.
Björndahl L., Kvist U. Human sperm chromatin stabilization: a proposed model including zinc bridges. Mol. Hum. Reprod. 2010;16(1): 23-29. DOI 10.1093/molehr/gap099.
Canario L., Mignon-Grasteau S., Dupont-Nivet M., Phocas F. Genetics of behavioural adaptation of livestock to farming conditions. Animal. 2013;7(3):357-377. DOI 10.1017/S1751731112001978.
Enciso M., Cisale H., Johnston S.D., Sarasa J., Fernández J.L., Gosálvez J. Major morphological sperm abnormalities in the bull are related to sperm DNA damage. Theriogenology. 2011;76(1):23-32. DOI 10.1016/j.theriogenology.2010.12.034.
Evenson D.P. The Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA) and other sperm DNA fragmentation tests for evaluation of sperm nuclear DNA integrity as related to fertility. Anim. Reprod. Sci. 2016;169:56-75. DOI 10.1016/j.anireprosci.2016.01.017.
Freneau G.E., Chenoweth P., Ellis R., Rupp G. Sperm morphology of beef bulls evaluated by two different methods. Anim. Reprod. Sci. 2010;118(2-4):176-181. DOI 10.1016/j.anireprosci.2009.08.015.
Fuerst-Waltl B., Schwarzenbacher H., Perner C., Sölkner J. Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls. Anim. Reprod. Sci. 2006; 95(1-2):27-37. DOI 10.1016/j.anireprosci.2005.09.002.
Hering D.M., Olenski K., Kaminski S. Genome-wide association study for poor sperm motility in Holstein-Friesian bulls. Anim. Reprod. Sci. 2014a;146(3-4):89-97. DOI 10.1016/j.anireprosci.2014. 01.012.
Hering D.M., Oleński K., Ruś A., Kaminski S. Genome-wide association study for semen volume and total number of sperm in Holstein-Friesian bulls. Anim. Reprod. Sci. 2014b;151(3-4):126-130. DOI 10.1016/j.anireprosci.2014.10.022.
Hoflack G., Opsomer G., Rijselaere T., Van Soom A., Maes D., de Kruif A., Duchateau L. Comparison of computer-assisted sperm motility analysis parameters in semen from Belgian blue and Holstein-Friesian bulls. Reprod. Domest. Anim. 2007;42(2):153-161. DOI 10.1111/j.1439-0531.2006.00745.x.
Hopper R.M., King E.H. Evaluation of breeding soundness: basic examination of the semen. In: Hopper R.M. (Ed.). Bovine Reproduction. Oxford: Wiley-Blackwell, 2014;248-260. DOI 10.1002/ 9781118833971.

- Koivisto M.B., Costa M.T., Perri S.H., Vicente W.R. The effect of season on semen characteristics and freezability in *Bos indicus* and *Bos taurus* bulls in the southeastern region of Brazil. *Reprod. Domest. Anim.* 2009;44(4):587-592. DOI 10.1111/j.1439-0531.2008.01023.x.
- Liu S., Yin H., Li C., Qin C., Cai W., Cao M., Zhang S. Genetic effects of *PDGFRB* and *MARCH1* identified in GWAS revealing strong associations with semen production traits in Chinese Holstein bulls. *BMC Genet.* 2017;18(1):63. DOI 10.1186/s12863-017-0527-1.
- Menegassi S.R., Pereira G.R., Bremm C., Koetz C., Jr., Lopes F.G., Fiorentini E.C., McManus C., Dias E.A., da Rocha M.K., Lopes R.B., Barcellos J.O. Effects of ambient air temperature, humidity, and wind speed on seminal traits in Braford and Nellore bulls at the Brazilian Pantanal. *Int. J. Biometeorol.* 2016;60(11):1787-1794. DOI 10.1007/s00484-016-1167-2.
- Menon A.G., Barkema H.W., Wilde R., Kastelic J.P., Thundathil J.C. Associations between sperm abnormalities, breed, age, and scrotal circumference in beef bulls. *Can. J. Vet. Res.* 2011;(4):241-247.
- Ntemka A., Tsousis G., Brozos C., Kioussis E., Boscios C.M., Tsakmakidis I.A. Breed differences of bull frozen-thawed semen. *Reprod. Domest. Anim.* 2016;51(6):945-952. DOI 10.1111/rda.12769.
- Omu A.E. Sperm parameters: paradigmatic index of good health and longevity. *Med. Princ. Pract.* 2013;22(1):30-42. DOI 10.1159/000354208.
- Porto-Neto L.R., Reverter A., Prayaga K.C., Chan E.K., Johnston D.J., Hawken R.J., Fordyce G., Garcia J.F., Sonstegard T.S., Bolormaa S., Goddard M.E., Burrow H.M., Henshall J.M., Lehnert S.A., Barendse W. The genetic architecture of climatic adaptation of tropical cattle. *PLoS One.* 2014;9(11):1-22. DOI 10.1371/journal.pone.0113284.
- Saacke R.G. Sperm morphology: its relevance to compensable and un-compensable traits in semen. *Theriogenology.* 2008;70(3):473-478. DOI 10.1016/j.theriogenology.2008.04.012.
- Sivakumar A., Kumar S., Yathish H.M., Mishra C., Modi R.P., Chaudhary R., Khan S., Sivamani B., Ghosh S.K., Sarkar M. Expression profiling and identification of novel SNPs in *CatSper2* gene and their influence on sperm motility parameters in bovines. *Anim. Biotechnol.* 2018;29(1):34-40. DOI 10.1080/10495398.2017.1294597.
- Thundathil J., Meyer R., Palasz A.T., Barth A.D., Mapletoft R.J. Effect of the knobbed acrosome defect in bovine sperm on IVF and embryo production. *Theriogenology.* 2000;54(6):921-934.

ORCID ID

M.A. Kleshchev orcid.org/0000-0002-7537-2525

L.V. Osadchuk orcid.org/0000-0002-7597-9204