

молочному скотарстві / О. В. Сидоренко, С. Л. Войтенко, М. Г. Порхун. – Полтава : ПП Астрия, 2020. – 38 с.

13. Филь, С. І. Динаміка молочної продуктивності корів різних ліній / С. І. Филь, Є. І. Федорович, П. В. Боднар // Розведення і генетика тварин.– 2019. – Вип. 57. – С. 136–142.

14. Боровиков, В. П. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере : для профессионалов / В. П. Боровиков. – СПб., 2001. – 56 с.

Поступила 3.03.2020 г.

УДК 636.2.034:612.02

А.И. ГАНДЖА, Л.Л. ЛЕТКЕВИЧ, В.П. СИМОНЕНКО,
И.В. КИРИЛЛОВА, Е.Д. РАКОВИЧ, О.П. КУРАК., Н.В. ЖУРИНА,
М.А. КОВАЛЬЧУК

ВЛИЯНИЕ СЕЗОНА ГОДА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМЫ БЫКОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ТЕХНОЛОГИИ IN VITRO

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

В статье приведён анализ результатов капацитации спермиев по морфологическим показателям, полученным в разные сезоны года. Установлено, что у спермы, полученной в осенне-зимний период, до капацитации от Лексуса, Балеро, Морфия этот показатель находился на более низком уровне, чем в весенне-летний период. Разница составила 0,1. У Барри и Ранга он находился на одном уровне. После капацитации у быков Барри и Ранга отмечено улучшение индекса тератозооспермии на 0,1 у спермиев, полученных в осенне-зимний период, а у Балеро и Морфия – на 0,1 у спермиев, полученных в весенне-летний период, у быка Лексус индекс тератозооспермии не изменился.

Ключевые слова: оцит, экстракорпоральное оплодотворение, капацитация, спермии.

A.I. GANDZHA, L.L. LETKEVICH, V.P. LETKEVICH, I.V. KIRILLOVA,
E.D. RAKOVICH, O.P. KURAK, N.V. ZHURINA, M.A. KOVALCHUK

EFFECT OF SEASON OF THE YEAR ON MORPHOLOGICAL INDICATORS OF BULLS' SEMEN USED FOR IN VITRO TECHNOLOGY

*Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus
for Animal Breeding, Zhodino, Belarus*

The paper presents analysis of the results of spermatozoa capacitation according to morphological indicators, obtained in different seasons of the year. It was determined that in semen obtained in the autumn-winter period, before capacitation from Lexus, Balero, Morphine, this indicator was at a lower level compared to spring-summer period. The difference made 0.1. For Barry and Rank it was on the same level. After capacitation, the teratozoospermia index improved by 0.1 in Barry and Rank bulls' spermatozoa obtained in the autumn-winter period, and

in Balero and Morphia bulls – by 0.1 in spermatozoa obtained in the spring-summer period, the teratozoospermia index did not vary in the Lexus bull.

Keywords: oocyte, in vitro fertilization, capacitation, spermatozoa.

Введение. Изучение морфологических показателей гамет является важной задачей в скотоводстве при использовании технологии *in vitro* для повышения эффективности оплодотворения, наступления стельности и рождения здоровых потомков.

Установлено, что отклонения в морфофункциональном состоянии репродуктивных органов у крупного рогатого скота в условиях резко континентального климата снижают воспроизводительную способность стада [1]. Сезон года влияет на показатели спермопродукции [2], в зависимости от него меняется доля клеток с нормальной морфологией вследствие изменения гормонального фона и воздействия окружающей температуры [3]. Зимний и весенний сезоны наиболее благоприятны для получения спермы. В летний период для быков-производителей характерна относительно низкая половая активность, отмечается также снижение активности осенью [4]. Наивысшие показатели по объёму эякулята и количеству сперматозоидов в весенний период объясняются фотопериодизмом и андрогенной активностью быков [5]. В этой связи изучение влияния сезона года на морфологический состав спермиев, используемых в технологии экстракорпорального оплодотворения ооцитов коров, видится актуальной задачей.

Была **поставлена цель** – провести анализ результатов капацитации спермиев по морфологическим показателям, полученным в разные сезоны года.

Материал и методика исследований. Исследования проведены в лаборатории молекулярной биотехнологии и ДНК-тестирования РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». Замороженную сперму быков оттаивали на водяной бане, извлекали из пайеты и проводили исследования, либо помещали в 1 мл среды для капацитации в CO₂-инкубатор. Для изучения морфологических показателей замороженно-оттаянных спермиев быков каплю спермы исследовали под микроскопом (увеличение в 400-600 раз). Подсчитывали первые 200 клеток, учитывая отдельно нормальные и патологические клетки [6]. Патологические формы сперматозоидов выглядят примерно так: изменена форма головки с овальной на круглую, сплюснутую, грушевидную, две и более головки, увеличенные или уменьшенные размеры; дефекты шейки, которая может быть скрученной, утолщённой, неоднородной, истонченной сверх меры; аномалии хвостика, встречаются сперматозоиды, лишённые хвостика, с коротким или слишком длинным хвостом, или частично сломанным.

При оценке выраженности патологии спермиев мы опирались на индекс тератозооспермии (teratozoospermia index): следует разделить общее число подсчитанных аномалий на число аномальных сперматозоидов. Отдельно подсчитывается количество сперматозоидов, имеющих аномальное строение тех или иных его частей. Если каждая клетка будет иметь только 1 дефект, индекс тератозооспермии будет равняться единице. Нормой считаются значения от 1,0 до 1,6. Индекс тератозооспермии позволяет прогнозировать шансы, как на естественное оплодотворение, так и на успех процедуры экстракорпорального оплодотворения.

Результаты эксперимента и их обсуждение. Изучены морфологические показатели спермы, полученной в весенне-летний период до и после проведения капацитации (таблица 1).

Установлено, что до капацитации количество морфологически нормальных спермиев было в пределах от 84,5 % у быка Лексус до 90,5 % у быка Барри. У Ранга этот показатель находился на уровне 85,5 %, у Балеро он составил 87,5 % и у Морфия – 89,0 %.

Наибольшее число спермиев (31) с морфологическими дефектами отмечено у Лексуса. Так, у 13 спермиев (41,9 %) отмечено нарушения в области головки, у 9 (29,0 %) – в области тела и у 12 (38,7 %) – в области хвостика. Однако индекс тератозооспермии при этом составил 1,1. Наименьшее число морфологически аномальных спермиев отмечено у Барри – 19. Дефекты головки имели 47,4 % (9), тела – 36,8 % (7), хвостика – 63,2 % (12). Так, на 19 дефектных спермиев приходилось 28 аномальных дефектов. Индекс тератозооспермии у данного быка находился у верхней границы допустимых показателей и составил 1,5. У других быков количество дефектных спермиев находилось на уровне 22 у Морфия, 25 – у Балеро, 29 – у Ранга. Индекс тератозооспермии также находился на среднем уровне и составлял 1,2 у Балеро и 1,3 у Ранга и Морфия. Наименьшее количество повреждений головки до капацитации отмечено у спермиев Балеро – 28,0 % (7), а наибольшее у Ранга – 51,7 % (15). У спермиев Морфия этот показатель был на уровне 40,9 % (9). Аномальные формы спермиев в области тела у Ранга имели 27,6 % (8), у Морфия таких форм имелось 31,8 % (7), а у Балеро – 40,0 % (10). Хвостики 16 (55,2 %) спермиев Ранга имели дефекты, у Морфия их было 11 (50,0 %) и у Балеро – 12 (48,0 %).

Таким образом, при наибольшем количестве нормальных спермиев и наименьшем количестве морфологически дефектных спермиев до капацитации у Барри индекс тератозооспермии составил 1,5, а при наименьшем количестве нормальных спермиев и наибольшем количестве морфологически дефектных спермиев у Лексуса индекс тератозооспермии составил 1,1.

Таблица 1 – Морфологические показатели спермы быков-производителей, полученной в весенне-летний период

№ пп	Бык	Нормальные спермии до капситашии, п.-%	Нормальные спермии после капситашии, п.-%	Морфологические дефекты спермиев, п.-%				Индекс тератозооспермии после капситашии	Индекс тератозооспермии до капситашии		
				до капситашии		после капситашии					
				головки	тела	головки	хвостика				
1	Лекус 500578	169-84,5	175-87,5	13-41,9	9-29,0	12-38,7	10-40,0	8-32,0	12-48,0	1,1	1,2
2	Барри 500482	181-90,5	177-88,5	9-47,4	7-36,8	12-63,2	9-39,1	6-26,1	15-65,2	1,5	1,3
3	Ранг 500494	171-85,5	173-86,5	15-51,7	8-27,6	16-55,2	12-44,4	5-18,5	14-51,9	1,3	1,2
4	Балеро 500608	175-87,5	179-89,5	7-28,0	10-40,0	12-48,0	11-52,4	9-42,9	5-23,8	1,2	1,2
5	Морфий 500559	178-89,0	182-91,0	9-40,9	7-31,8	11-50,0	5-27,8	4-22,2	11-61,1	1,3	1,1

После проведения процедуры капацитации 91,0 % (182) морфологически нормальных спермиев получено у Морфия, на 1,5 % меньше у Балеро, на 2,5 % – у Барри, на 3,5 % – у Лексуса и на 4,5 % – у Ранга. Наименьшее число морфологических дефектов после капацитации отмечено также у Морфия (18), из них 5 (27,8 %) имели аномалии головки, 4 (22,2 %) аномалии тела и 11 (61,1 %) аномалии хвостика. Индекс тератозооспермии у данного быка составил 1,1, что на 0,2 ниже, чем до капацитации. У Балеро 52,4 % (11) спермиев имели дефекты головки, 42,9 % (9) – дефекты тела и 23,8 % (5) – дефекты хвостика. Индекс тератозооспермии, как до капацитации, так и после, остался на уровне 1,2.

У Барри обнаружено 23 дефектных спермия, из которых 15 (65,2 %) были с аномалиями хвостика, 9 (39,1 %) имели аномалии головки и 6 (26,1 %) аномалии тела. Индекс тератозооспермии у данного быка снизился на 0,2, но остался самым высоким – 1,3. Морфологически дефектных спермиев у Лексуса обнаружено 25, из них 12 (48,0 %) имели дефекты хвостика, 10 (40,0 %) – дефекты головки и 8 (32,0 %) – дефекты тела. Индекс тератозооспермии у Лексуса на 0,1 стал выше, чем до капацитации и составил 1,2. Наибольшее количество аномальных спермиев отмечено у Ранга. Так, 51,9 % (14) спермиев имели повреждения хвостика, 44,4 % (12) были с дефектами головки и 18,5 % (5) спермиев имели аномалии тела. Индекс тератозооспермии при этом снизился и составил 1,2.

Таким образом, у спермы, полученной в весенне-летний период, до капацитации наибольшее количество клеток (31) с морфологическими дефектами отмечено у Лексуса при индексе тератозооспермии 1,1. Наименьшее число морфологически аномальных спермиев отмечено у Барри – 19 при индексе тератозооспермии 1,5. Наименьшее число морфологических дефектов после капацитации отмечено у Морфия – 18. Индекс тератозооспермии у него составил 1,1, что на 0,2 ниже, чем до капацитации. Наибольшее количество аномальных спермиев отмечено у Ранга – 27, индекс тератозооспермии при этом снизился и составил 1,2.

Морфологические показатели спермиев, полученных в осенне-зимний период, до и после проведения капацитации, представлены в таблице 2. Так, наибольшее количество морфологически нормальных спермиев до капацитации отмечено у Балеро (179), а наименьшее – у Барри (170). У Лексуса этот показатель составил 177 (88,5 %), у Ранга – 175 (87,5 %), у Морфия – 172 (86,0 %). Меньше всего морфологических дефектов головки спермиев до капацитации обнаружено у Морфия (39,3 %), наибольшее число этих дефектов у Балеро (61,9 %), у быков Ранг, Лексус и Барри он составил 40,0 %, 49,1 и 50,0 % соответственно. Уровень спермиев с морфологическими дефектами тела

Таблица 2 – Морфологические показатели спермы быков-производителей полученной в осенне-зимний период

№ пп	Бык	Нормальные спермии до капсита, п-%	Нормальные спермии после капсита, п-%	Морфологические дефекты спермиев, п-%				Индекс тератозооспермии до капсита	Индекс тератозооспермии после капсита		
				до капсита	после капсита						
				головики	тела	хвостика	головики	тела	хвостика		
1	Лексус 500578	177-88,5	171-85,5	11-49,1	7-30,4	10-43,5	13-44,8	4-13,8	18-62,1	1,2	1,2
2	Барри 500482	170-85,0	173-86,5	15-50,0	9-30,0	21-70,0	15-55,6	8-29,6	9-33,3	1,5	1,2
3	Ранг 500494	175-87,5	183-91,5	10-40,0	11-44,0	12-48,0	7-41,2	3-17,7	9-52,9	1,3	1,1
4	Балеро 500608	179-89,5	175-87,5	13-61,9	6-28,6	8-38,1	10-40,0	7-28,0	16-64,0	1,3	1,3
5	Морфий 500559	172-86,0	177-88,5	11-39,3	9-32,1	19-67,9	12-52,2	5-21,7	11-47,8	1,4	1,2

составил от 28,6 % у Балеро до 44,0 % у Ранга, у Барри он составил 30,0 %, у Лексус – 30,4 % и у Морфия – 32,1 %. Наименьшее количество морфологических дефектов хвостика спермиев отмечалось также у Балеро (38,1%). У Лексуса этот показатель находился на уровне 43,5 %, у Ранга – 48,0 %. Больше всего данных дефектов обнаружено у быков Морфий (67,9 %) и Барри (70,0 %). Самый низкий индекс тератозооспермии до капацитации отмечен у Лексуса, который составил 1,2. Немного выше (1,3) индекс тератозооспермии находился у Ранга и Балеро, ещё выше (1,4) у Морфия и самый высокий у Барри (1,5).

Морфологически нормальных спермиев после капацитации больше всего обнаружено у Ранга – 91,5 %. Уровень таких спермиев у Морфия составил 88,5 %, у Балеро – 87,5 %, у Барри – 86,5 %. По наличию морфологических дефектов у Барри отмечены наивысшие показатели по аномалиям головки (55,6 %) и тела (29,6 %), однако спермии данного быка имели меньше всего аномалий в области хвостика (33,3 %). Обратная картина наблюдалась у Балеро. Так, количество дефектов головки спермиев составило 40,0 %, а дефектов хвостика – 64,0 %, тела – 28 %. У быков Ранг, Лексус и Морфий количество аномальных дефектов в области головки обнаружено 41,2 %, 44,8 и 52,2 % соответственно. Наименьшее количество морфологических дефектов в области тела отмечено у Лексуса и составило 13,8 %. Морфологические дефекты хвостиков спермиев Морфия, Ранг и Лексус составили 47,8 %, 52,9 и 62,1 % соответственно. По индексу тератозооспермии после капацитации наилучший результат отмечен у Ранга – 1,1, у быков Лексус, Барри и Морфий он находился на уровне 1,2, а у Балеро он составил 1,3. Индекс тератозооспермии до и после капацитации у Морфия и Ранга повысился на 0,2, а у Барри – на 0,3. У Лексуса и Балеро индекс тератозооспермии остался на прежнем уровне – 1,2 и 1,3 соответственно.

Индекс тератозооспермии спермы, полученной в осенне-зимний период, до капацитации у Лексуса, Балеро, Морфия находился на более низком уровне, чем в весенне-летний период. Разница составила 0,1. У Барри и Ранга он находился на одном уровне, независимо от периода получения спермы быков-производителей. Неоднозначная ситуация сложилась и после капацитации. Так, у спермиев быков Барри и Ранга, полученных в осенне-зимний период, отмечено улучшение индекса тератозооспермии на 0,1, а у Балеро и Морфия – на 0,1 у спермиев, полученных в весенне-летний период, у быка Лексус индекс тератозооспермии находился на уровне 1,2 вне зависимости от периода получения спермы.

Таким образом, наибольшее количество морфологически нормальных спермиев после капацитации обнаружено у быка Ранг – 91,5 %. По наличию морфологических дефектов у Барри отмечены наивысшие

показатели по аномалиям головки (55,6 %) и тела (29,6 %), однако спермии данного быка имели меньше всего аномалий хвостика (33,3 %). Наименьшее количество морфологических дефектов в области тела отмечено у Лексуса – 13,8 %. По индексу тератозооспермии после капацитации наилучший результат отмечен у Ранга – он составил 1,1. Индекс тератозооспермии при сравнении до и после капацитации у быков Морфий и Ранг повысился на 0,2, а у Барри – на 0,3. Индекс тератозооспермии, полученной в осенне-зимний период до капацитации, у Лексуса, Балеро, Морфия находился на более низком уровне.

Заключение. Морфологические показатели спермиев быков имеют незначительные отличия в зависимости от сезона года и, как правило, тенденцию к улучшению в процессе подготовки к оплодотворению. Проведён анализ спермы по индексу тератозооспермии. У спермы, полученной в осенне-зимний период, до капацитации от Лексуса, Балеро, Морфия этот показатель находился на более низком уровне, чем в весенне-летний период. Разница составила 0,1. У Барри и Ранга он находился на одном уровне. После капацитации у быков Барри и Ранга отмечено улучшение индекса тератозооспермии на 0,1 у спермиев, полученных в осенне-зимний период, а у Балеро и Морфия – на 0,1 у спермиев, полученных в весенне-летний период, у быка Лексус индекс тератозооспермии не изменился.

Литература

1. Beloborodenko M.A., Beloborodenko T.A., Beloborodenko A.M., Rodin I.A., Gubskii V.I., Demnina A.V., Beloborodenko D.F. Materialy Mezhdunarodnoi 322 nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 45-letiyu GNU VNIVIPiТ «Problemy i puti razvitiya veterinarii vysokotekhnologicheskogo zhivotnovodstva» [Proc. Int. Conf. «Veterinary of industrial husbandry — challenges and development»]. – Voronezh, 2015. – P. 80-85.
2. Sūgavkūlmutatud/sultatatud spermide kvaliteedinditajate seos sesoonsuse ja sugupulli vanuse ning emasloomade tiinestumisega / P. Padrik, T. Hallap, T. Bulitko, U. Jaakma // Agraarteadus, - 2010. – Vol. XXI, N 1-2. – P. 38-46.
3. Seasonal changes in semen quality and freezability in the Warmblood stallion / F. Janett, R. Thun, R. Niederer, D. Burger, M. Hässig // Theriogenology. – 2003. – Vol. 60(3). – P. 453-461 (doi: 10.1016/S0093-691X(03)00046-3).
4. Eremina, I. Yu. Materialy III Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Sovremennye tekhnologicheskie i selektsionnye aspekty razvitiya zhivotnovodstva Rossii» [Proc. III Int. Conf. «Modern technological and breeding aspects of animal husbandry in Russia»]. Dubrovitsy, 2005. – Vol. 1. – P. 65-69.
5. Seasonal variation in semen quality of swamp buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) in Thailand / S. Koonjaenak, V. Chanatinart, S. Aiumlamai, T. Pinyopumimint, H. Rodriguez-Martinez // Asian J. Androl. – 2007. – Vol. 9. – P. 92-101 (doi: 10.1111/j.1745-7262.2007.00230.x).
6. Ball, P. Reproduction in cattle / P. Ball, A. R. Peters. – Oxford : Blackwell Publishing Ltd, 2004. – 250 p.

Поступила 24.02.2020 г.