
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА CASA ПРИ ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА СЕМЕНИ У БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

А.В. Таджиева¹, Н.Н. Сулима²

¹Кафедра общественного здоровья, здравоохранения и гигиены
Российский университет дружбы народов
ул. Микулухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
животноводства имени академика Л.К. Эрнста»
п. Дубровицы, Подольский район, Московская область, 142132

Комплексная оценка семени быков-производителей проведена с использованием компьютерной технологии CASA (Computer Aided Sperm Analysis). Результативность осеменения зависит от качественных и количественных показателей семени. Высокие показатели получены от быков, у которых количество сперматозоидов с прямолинейным поступательным движением составляет более 16 млн в спермодозе. В зависимости от степени фрагментации ДНК в хроматине сперматозоидов выделяются группы с высокой степенью фрагментации (более 30%), средней (10,01% до 30%), умеренной (от 5,01% до 10,0%) и минимальной (менее 5,0%).

Ключевые слова: хроматин, CASA, индекс фрагментация ДНК, оценка сперматозоидов.

Государственная программа развития сельского хозяйства на 2013—2020 гг. предусматривает развитие в сфере производства — скотоводство путем увеличения продуктивности животных. В молочном скотоводстве в связи с особенностью метода разведения и технологии содержания, по сравнению с другими отраслями животноводства, влияние производителей на общие показатели воспроизводства стада больше, чем в других отраслях, следовательно, оценка репродуктивных качеств быков-производителей требует соответствующего внимания [1].

Исследования отечественных и зарубежных ученых показали, что результаты искусственного осеменения молочных коров (спермой одного быка осеменяют тысячи коров) зависят не только от их репродуктивного состояния, но и в значительной степени от качества спермы быков-производителей [6; 7]. Около 40% быков-производителей имеют пониженную фертильность, незначительная часть бесплодна. В связи с этим точная оценка биологической полноценности сперматозоидов имеет большое экономическое и биологическое значение [3; 8].

При оценке потенциала воспроизводительной способности самцов наряду с оценкой по результатам осеменения учитывают комплексную оценку семени, ее качественные и количественные показатели.

Оценка по результатам осеменения наиболее точная, но экономически рискованная и дорогостоящая, так как для достоверной оценки необходимо осеменять большое количество самок с нормальной воспроизводительной способностью и оценивать результаты осеменения по всем параметрам [4; 8].

Комплексная оценка семени включает множество качественных и количественных показателей, на точность которых влияют объективные и субъективные факторы.

Одним из факторов является используемый метод анализа при оценке качества семени.

Избежать субъективизма при оценке качества семени можно с помощью компьютерной технологии. Использование компьютерного анализа спермы CASA (Computer Aided Sperm Analysis) не только значительно повышает точность оценки, но и сокращает затраты времени и труда, повышает контроль качества. Применение компьютерных технологий позволяет накапливать и сопоставлять информацию без ограничения. Учитывая масштабы применения искусственного осеменения в животноводстве, использование комплексных оценок качества сперматозоидов с применением новейших технологий приобретает все большее значение.

Целью настоящей работы является комплексная оценка качества семени быков-производителей, используемых в хозяйстве Московской области.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены в лаборатории репродуктивной криобиологии Центра биотехнологии ВИЖа им. Л.К. Эрнста и экспериментальном хозяйстве «Кленово-Чегодаево» на ферме «Дубровицы». Материалом для исследований послужила заморожено-оттаянная сперма быков-производителей ($n = 6$), используемая в хозяйстве, и данные зоотехнического и племенного учета.

Оценку качества спермы проводили с помощью компьютерной технологии — computer — assisted semen analysis (CASA). Степень фрагментации ДНК в сперматозоидах изучали методом акридин оранжевого теста (АО-тест) [4]. Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel.

Результаты исследования. Результативность осеменений в хозяйстве маточного поголовья за исследуемый период отдельными быками приведена в табл. 1, из данных которых видно, что в среднем на одного быка-производителя пришлось $55,7 \pm 8,4$ стельных маток. Разница между производителями составляет более чем в 3 раза, и результативность по отдельным быкам практически одинакова. Как известно, у телок результативность осеменения бывает более 90% в отличие от коров. У быков Диора и Пикуля показатели результативного осеменения выше за счет доли (более 50%) телок.

Таблица 1

Результативность осеменения в хозяйстве маточного поголовья

№ п/п	Кличка быка	Общее количество осеменений, гол	Количество стельных, гол	% стельности
1	Аякс	69	44	63,7
2	Браулер	37	27	73
3	Диор	103	80	77,6
4	Лонг	98	68	69,4
5	Оптимист	89	64	71,9
6	Пикуль	67	51	76,1

Однако данный показатель не объясняет доли влияния репродуктивных потенциалов быков на результативность осеменения. В связи с этим встает вопрос:

если воспроизводительная способность быков стабильна, а результаты осеменения значительно различаются, то эти различия могут быть за счет воспроизводительной способности коров. На результативность осеменений влияют также и внешние факторы, такие как сезон года, условия кормления, содержания, состояние здоровья коров и др. [5].

Основными показателями качества спермы по ГОСТ 26030-83 являются: подвижность, концентрация, доля сперматозоидов с прямолинейным движением (ППД) и морфологические особенности сперматозоидов [2].

При оценке качества спермы большое значение придают подвижности. Этот показатель определяют методами визуального микроскопирования, в данной работе использовали компьютерный анализ спермы computer-assisted semen analysis (CASA).

Система (CASA) позволяет оценивать концентрацию, подвижность и морфологию сперматозоидов. Особенность системы состоит в том, что в соответствии с описанием система может измерять фрагментацию ДНК (DNA fragmentation index FI). Индекс фрагментации ДНК определяется как отношение числа сперматозоидов с поврежденной ДНК (клетки флюоресцируют в красной области спектра) к общему числу сперматозоидов. Таким образом, компьютерная технология computer-assisted semen analysis (CASA) значительно повышает точность оценки и сокращает затраты времени и повышает качество контроля.

Нами была оценена сперма шести быков-производителей, которые были прикреплены по плану племенной работы.

Как видно из рис. 1, наибольшее количество сперматозоидов с прямолинейным движением (ППД, класс А) зафиксировано у Браулера ($16,8 \pm 0,8$) наименьший у быков-производителей Аякса ($15 \pm 0,5$), Оптимиста ($15 \pm 0,6$) и Диора ($15,4 \pm 0,8$) (рис. 1). Во всех исследуемых образцах общее количество спермиев в дозе в среднем составила $35,5 \pm 1,2$ млн.

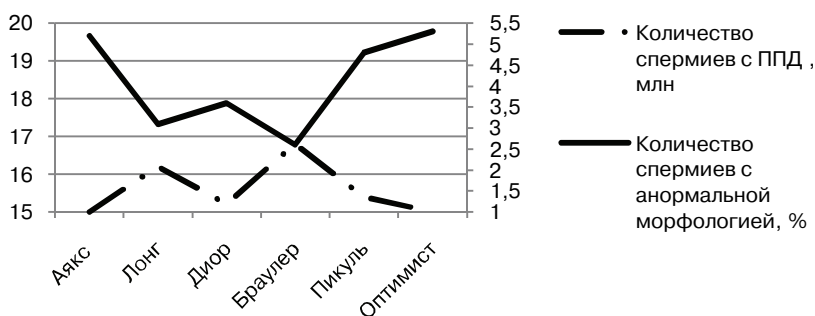


Рис. 1. Количество спермиев с ППД и аномальной морфологией в сперме быков-производителей

По действующей нормативной документации ГОСТ 26030-83 количество спермиев с аномальной морфологией должно быть не более 18%. Во всех исследуемых образцах этот показатель составил менее 6%. Так, у Браулера коли-

чество спермиев с аномальной морфологией составило 2,6%, у Оптимиста 5,3% (см. рис. 1). Таким образом, по оценке качественных показателей наилучшими отличается бык Браулер и Лонг.

На практике при оценке качества семени учитывается в основном его способность донести генетический материал до яйцеклетки и произвести ее оплодотворение. Но жизнеспособность и развитие зародыша зависят от состояния генетического материала (ДНК), следовательно, основным показателем, определяющим биологическую полноценность сперматозоида, является состояние хроматина [4].

По степени фрагментации ДНК в хроматине сперму можно разделить на четыре группы: к первой группе относятся образцы, в которых содержание сперматозоидов с различной степенью фрагментации составляет более 30% (высокая степень фрагментации), ко второй группе от 10,01% до 30% (средняя степень), к третьей — от 5,0% до 10% (умеренная степень) и четвертая — менее 5,0% (минимальная степень). В исследованных нами образцах спермы быков-производителей индекс фрагментации в среднем соответствовал умеренной степени $-9,65\% \pm 0,38$.

Выводы. Анализ качественных и количественных показателей оценки семени показал, что быки Браулер и Лонг являются эффективными производителями. Выявлена умеренная степень величины индекса фрагментации ДНК (FI) образцов спермы ($9,65 \pm 0,38\%$).

Таким образом, для комплексной оценки качества спермы быков-производителей необходимо использовать компьютерные технологии, в частности метод CASA, с привлечением максимального числа показателей, в том числе состояние наследственного материала в содержащихся сперматозоидах.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Государственная программа развития сельского хозяйства и регулирования рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия на 2013—2020 годы, от 19 декабря 2014 г. № 1421: URL <http://www.mcx.ru>.
- [2] ГОСТ 26030-83 Сперма быков замороженная. Технические условия.
- [3] Багиров В.А., Фертильность сперматозоидов и состояние хроматина: методы контроля (обзор) / Багиров В.А., Кононов В.П., Иолчиев Б.А., Кленовицкий П.М., Эрнст Л.К. // *Сельскохозяйственная биология*. 2012. № 2. С. 3—13.
- [4] Иолчиев Б.С. Индекс фрагментации ДНК хроматина в сперматозоидах при оценке качества семени у быков-производителей / Иолчиев Б.С., Багиров В.А., Кленовицкий П.М., Кононов В.П., Таджиева А.В. // *Сельскохозяйственная биология*. 2012. № 4. С. 31—35.
- [5] Иолчев Б.С. Факторы, влияющие на уровень воспроизведения коров в современном молочном скотоводстве / Иолчиев Б.С., Кононов В.П., Таджиева А.В., Багиров В.А., Дьякевич О.Н., Мамбеталиев М.А. // *Аграрная Россия*. 2014. № 12. С. 18—21.
- [6] Чомаев А.М., Чернышёва М.Н., Даровских В.Е., Афанасьев В.А. Анализ оплодотворяющей способности семени быков-производителей // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия сельскохозяйственные науки, животноводство*. 2003. № 10. С. 46—48.
- [7] Flowers W.L. Sperm characteristics that limit success of fertilization // *J. Anim.* 2013. V. 91. no. 73022—3029.
- [8] Oberlender G. Influence of Ejaculation Time on Sperm Quality Parameters in High Performance Boars / Oberlender G., Murgas L.D.S., Zangeronimo M.G., Silva A.C. and Pereira L.J. // *J Anim Sci Adv* 2012, 2(5): 499—509.

UTILIZATION OF METHOD CASA FOR EVALUATION OF QUALITY OF SEMEN IN BULLS-PRODUCERS

A.V. Tadzhiyeva¹, N.N. Sulima²

¹Department of public health and hygiene
Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, Russia, 117198

²All-Russian Research Institute for Animal Breeding
Dubrovitsy, Podolsk raion, Moscow oblast, Russia, 142132

The quality of semen sires significantly affect the results of artificial insemination of dairy cows. Indicators determining the biological value of sperm are sperm morphology and the state of the hereditary material in chromatin. It is revealed that depending on the degree of fragmentation of DNA in the chromatin of sperm, there are groups with a high degree of fragmentation is over 30%, the average from 10.01% to 30%, moderate 5,01% to 10.0% and the minimum is less than 5.0%.

Key words: chromatin, CASA, DNA fragmentation in sperm chromatin, sperm quality.

REFERENCES

- [1] Gosudarstvennaya programma razvitija sel'skogo hozjajstva i regulirovanija rynkov sel'sko-hozjajstvennoj produkcii, syr'ja i prodovol'stviya na 2013—2020 gody, ot 19 dekabrya 2014 g. № 1421: URL <http://www.mcx.ru>.
- [2] GOST 26030-83 Sperma bykov zamorozhennaja. Tehnicheskie uslovija.
- [3] Bagirov V.A. Fertil'nost' spermatozoidov i sostojanie hromatina: metody kontrolja (obzor) / Bagirov V.A., Kononov V.P., Iolchiev B.A., Klenovickij P.M., Jernst L.K. *Sel'skohozjajstvennaja biologija*. 2012. № 2. S. 3—13.
- [4] Iolchiev B.S. Indeks fragmentacii DNK hromatina v spermatozoidah pri ocenke kachestva semeni u bykov-proizvoditelej / Iolchiev B.S., Bagirov V.A., Klenovickij P.M., Kononov V.P., Tadzhiyeva A.V. *Sel'skohozjajstvennaja biologija*. 2012. № 4. S. 31—35.
- [5] Iolchev B.S. Faktory, vlijajushhie na uroven' vosproizvedenija korov v sovremennom molochnom skotovodstve / Iolchiev B.S., Kononov V.P., Tadzhiyeva A.V., Bagirov V.A., D'jakevich O.N., Mambetaliev M.A. *Agrarnaja Rossija*. 2014. № 12. S. 18—21.
- [6] Chomaev A.M., Chernyshjova M.N., Darovskih V.E., Afanas'ev V.A. Analiz oplodotvorjajushhej sposobnosti semeni bykov-proizvoditelej. *Vestnik Rossijskogo universiteta družby narodov. Serija sel'skohozjajstvennye nauki, zhivotnovodstvo*. 2003. № 10. S. 46—48.
- [7] Flowers W.L. Sperm characteristics that limit success of fertilization. *J. Anim.* 2013. v. 91. no. 73022—3029.
- [8] Oberlender G. Influence of Ejaculation Time on Sperm Quality Parameters in High Performance Boars / Oberlender G., Murgas L.D.S., Zangeronimo M.G., Silva A.C. and Pereira L.J. *J Anim Sci Adv* 2012, 2(5): 499—509.