

УДК 636.2:57.045

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-343-11-33-35>

Краткий обзор/Brief review

Иолчиев Б. С.,
Волкова Л. А.,
Волкова Н. А.

Федеральный исследовательский центр
животноводства — виж имени академика
Л. К. Эрнста, 142132, Московская область,
Городской округ Подольск, поселок Дубро-
вицы, дом 60 baylar1@yandex.ru

Ключевые слова: сперма, swim-up,
межвидовые гибриды архара с овцами
романовской породы

Для цитирования: Иолчиев Б. С., Волкова
Л. А., Волкова Н. А. Повышение качества
семени межвидовых гибридов рода *Ovis*
с использованием биотехнологических
подходов. Аграрная наука. 2020; 343 (11):
33–35.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-343-11-33-35>

Конфликт интересов отсутствует

Baylar S. Iolchiev,
Ludmila A. VolkovaL.,
Natalia A. Volkova

Federal Research Center for Animal Husbandry
named after Academy Member L. K. Ernst
Dubrovitsy 60, Podolsk Municipal District,
Moscow Region, 142132 Russia, baylar1@
yandex.ru

Key words: sperm, swim-up, interspecific
hybrids of argali with sheep of the Romanov
breed

For citation: Iolchiev B. S., Volkova L. A.,
Volkova N. A. Improving the sperm of
interspecific hybrids of the genus *Ovis* using
biotechnological approaches. Agrarian
Science. 2020; 343 (11): 33–35. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-343-11-33-35>

There is no conflict of interests

Повышение качества семени межвидовых гибридов рода *Ovis* с использованием биотехнологических подходов

РЕЗЮМЕ

Актуальность и методы. При межвидовой гибридизации эффективность получения и воспроизводства гибридных животных имеет тесную взаимосвязь с репродуктивностью. Гибридные самцы часто имеют низкую фертильность. В связи с этим необходимо проводить процедуру подготовки спермы для дальнейшего использования. Целью исследования являлось изучение эффективности использования метода флотации (swim-up) для улучшения качества спермы гибридных самцов. Объектом исследования являлась сперма гибридов архара с овцами романовской породы (1/8 архар × 7/8 романовская порода, $n = 15$).

Результаты. Был проведен сравнительный анализ качественных и количественных показателей свежеполученного, заморожено-оттаянного и обработанного методом «swim-up» семени. Цикл замораживания-оттаивания спермы сопровождался повышением индекса фрагментации ДНК спермиев и увеличением доли неподвижных сперматозоидов соответственно на 10% и 37% по сравнению со свежеполученным семенем. Количество спермиев с аномальной морфологией возрастало в два раза. Использование процедуры «swim-up» позволило повысить содержание прогрессивно-подвижных сперматозоидов в 2,1 раза по сравнению с аналогичным показателем, установленным для заморожено-оттаянной спермы ($p \leq 0,01$). Полученные результаты свидетельствуют об эффективности использования процедуры «swim-up» для повышения качества семени межвидовых гибридных самцов.

Improving the sperm of interspecific hybrids of the genus *Ovis* using biotechnological approaches

ABSTRACT

Relevance and methods. The efficiency of obtaining and reproduction of hybrid animals is closely related to their reproductive performance during interspecific hybridization. Hybrid males often have low fertility. In this regard, it is necessary to carry out the procedure for the preparation of semen for further use. The aim of the research was to study the effectiveness of using the flotation method (swim-up) to improve the quality of the sperm from hybrid males. The object of the study was the sperm from hybrids of argali with Romanov breed ewes (1/8 argali × 7/8 Romanov breed, $n = 15$).

Results. A comparative analysis of the qualitative and quantitative indicators of freshly obtained, frozen-thawed and processed by the swim-up method was carried out. The sperm freeze-thaw cycle was accompanied by an increase in the sperm DNA fragmentation index and an increase in the proportion of immotile spermatozoa by 10% and 37%, respectively, compared with freshly obtained semen. The number of sperm with abnormal morphology doubled. Using the procedure «swim-up» possible to increase the content of the progressive motile sperm by 2.1 times compared with that established for the frozen-thawed sperm ($p \leq 0,01$). The obtained results indicated the effectiveness of using the «swim-up» procedure to improve the quality of the semen from interspecific hybrid males.

Поступила: 30 сентября
После доработки: 18 ноября
Принята к публикации: 10 сентября

Received: 30 September
Revised: 18 November
Accepted: 10 september

Эффективность получения и воспроизводства сельскохозяйственных животных, в том числе при межвидовой гибридизации, имеет тесную взаимосвязь с репродуктивностью [1–3]. Влияние гибридных самцов-производителей на селекционный эффект значительно увеличивается при использовании искусственного осеменения. Результаты искусственного осеменения зависят от многочисленных факторов. Одним из важнейших является качество используемой спермы. Используемая для осеменения сперма должна соответствовать определенным требованиям [4, 5]. Гибридные особи часто имеют низкую фертильность. Данный показатель зависит от комплекса биотических и абиотических факторов [6–8]. Качество семени не всех гибридных животных может соответствовать высоким требованиям. В связи с этим необходимо проводить процедуру подготовки спермы для дальнейшего использования.

Сперматозоиды, содержащиеся в эякулятах семени, отличаются по характеру движения, скорости, морфологии, состоянию акросомы, ДНК и др. Наряду с живыми подвижными сперматозоидами отмечается наличие мертвых спермиев, продукты распада которых оказывают отрицательное влияние на жизнеспособность живых сперматозоидов. Развитие вспомогательной репродуктивной технологии способствовало разработке эффективных методов и подходов, направленных на улучшение качества семени посредством дифференцировки сперматозоидов [9–11]. Данные методы позволяют проводить разделение сперматозоидов на популяции с прогрессивным движением, с непрогрессивным движением и неподвижные [12]. Для разделения сперматозоидов используют ряд методов, в частности отмывание от плазмы, фильтрацию, центрифугирование эякулята в градиенте плотности, «swim-up». Перспективным является последнее направление. Метод «swim-up» основан на способности сперматозоидов мигрировать в половых путях самки. Для разделения спермиев используют среду, схожую по составу с цервикальной слизью.

Целью исследования являлось изучение эффективности использования метода флотации (swim-up) для улучшения качества спермы гибридных самцов.

Методика

Объектом исследования являлась сперма межвидовых гибридов архара с овцами романовской породы ($n = 15$). Использовали свежеполученную, замороженно-оттаянную и обработанную методом «swim-up» сперму. Оценку подвижности сперматозоидов проводили с использованием пакета программ компьютерной оценки качества спермы CASA (computer-assisted semen analysis). Сбор спермы проводили в искусственную вагину в сезон размножения овец (октябрь–декабрь). Оценку целостности акросом определяли с помощью дифференциального окрашивания Дифф-Квик. Степень фрагментации ДНК сперматозоидов определяли с помощью акридин-оранжевого теста. Процедуру «swim-up» выполняли с использованием среды для подготовки сперматозоидов («ПанЭко», Россия).

Результаты

Объем полученной от гибридных животных нативной спермы составил 1,4 мл. Доля прогрессивно-подвижных (PR), непрогрессивно подвижных (NP) и неподвижных (IM) сперматозоидов в полученных эякулятах семени достигала 82, 8 и 10%, соответственно. 86% спермиев имели интактные акросомы, индекс фрагментации ядерной ДНК не превышал 16%.

Цикл замораживания-оттаивания спермы сопровождался увеличением в замороженно-оттаянных эякулятах семени доли IM и NP сперматозоидов на 50 и 12%, соответственно (рис.). Отмечалось также повышение содержания спермиев с аномальной морфологией в два раза и индекса фрагментации ДНК сперматозоидов на 10% (табл.)

Отделение живых сперматозоидов в замороженно-оттаянных эякулятах семени методом «swim-up» позволило повысить содержание спермиев с прямолинейно-поступательным движением в 2,1 раза ($p \leq 0,01$). Также отмечалось снижение доли спермиев с аномальной морфологией в 3,5 раза и нарушениями в структуре ДНК с 26 до 8% ($p \leq 0,01$).

Рис. 1. Подвижность сперматозоидов в свежеполученной и замороженно-оттаянной сперме гибридных баранов. PR спермии — прогрессивно-подвижные спермии, NP спермии — непрогрессивно подвижные спермии, IM спермии — неподвижные спермии

Fig. 1. Sperm motility in freshly harvested and frozen-thawed semen of hybrid rams

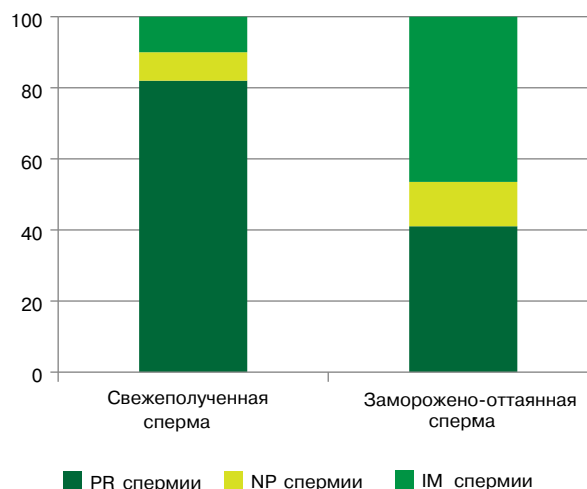


Таблица 1. Спермограмма межвидовых гибридов архара с домашней овцой в зависимости от процедуры предварительной обработки семени

Table 1. Spermogram of interspecific hybrids of argali with domestic sheep, depending on the procedure for pretreatment of the semen

Показатели	Сперма		
	свежеполученная	замороженно-оттаянная	после процедуры «Swim-up»
Доля прогрессивно подвижных спермиев, %	82,00±4,0	41,0±2,0	86,0±5,2*
Доля спермиев с интактной акросомой, %	90,6±3,6	80,6±3,2	92,0±4,5
Доля аномальных спермиев, %	7,4±2,4	18,9±3,4	5,0±0,5*
Индекс фрагментации ДНК спермиев, %	16±2,5	26±3,6	8,0±1,5*

* — разница достоверна при $p \leq 0,01$

Выводы

Использование метода флотации (всплытие живых сперматозоидов) позволяет повысить биологическую полноценность семени межвидовых гибридов. Применение данного подхода способствовало снижению доли спермиев с различными нарушениями, в частности IM и

NP-спермиев, с аномальной морфологией и нарушениями структуры ДНК спермиев.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, тема № АААА-А18-118021590132-9.

ЛИТЕРАТУРА

1. Luo J., Wang W., Sun S. Research advances in reproduction for dairy goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* (AJAS). 2019;32(8):1284–1295.
2. Айбазов А.М.М., Аксёнова П.В., Сеитов М.С. Современные биотехнические методы направленного воспроизводства мелкого рогатого скота. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2013;4(42):241–242.
3. Айбазов А.М.М., Аксёнова П.В., Коваленко Д.В. Биотехнологические методы и приемы интенсификации воспроизводства овец и коз. *Овцы, козы, шерстяное дело*. 2013;(2):35.
4. Гуминская Е.Ю., Бабаева С.С. Методы оценки биологической полноценности сперматозоидов быков-производителей. *Вестник МДПУ им. И. П. Шамякина*. 2010;2(27):20–24.
5. Бойко Е.В., Коропец Л.А., Кузубный С.В. Связь между количественными, качественными и физиологическими показателями спермы быков-производителей голштинской породы. *Зоотехническая наука Беларуси*. 2015;50(1):10–15.
6. Новиков М.В., Шумилина Н.Н. Репродуктивные способности и пути повышения плодовитости шиншиллы (*Chinchilla laniger* Molina). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;9(3):292–295.
7. Таджиева А. В., Сулима Н. Н. Использование метода CASA при оценке качества семени у быков-производителей. *Вестник РУДН. Серия: Агрономия и животноводство*. 2015;(4):89–93.
8. David I., Kohnke P., Lagriffoul G. Mass sperm motility is associated with fertility in sheep. *Animal Reproduction Science*. 2015;(161):75–81.
9. Pourlis, A.F. A review of morphological characteristics relating to the production and reproduction of fat-tailed sheep breeds. *Trop Anim Health Prod*. 2011;(43):1267–1287.
10. Mohammadzadeh S., Hoseini S.A., Kadivar A. Сравнительное изучение семени баранов романовской породы и породы Lori Bakhtiari. *Сельскохозяйственная биология*. 2018;(2):318–325.
11. Benia A.R., Saadi M.A., Ait-Amrane A., Belhamiti T.B., Selles S.M.A., Kaidi R. Effect of season and age on main characteristics of sperm production in the Ouled-Djellal rams. *Livestock Research for Rural Development*. 2018;(30):67–79.
12. Volpes A., Sammartano F., Rizzari S., Gullo, Marino A., Allegra A. The pellet swim-up is the best technique for sperm pre Separation during in vitro fertilization procedures. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(6):765–777.

ОБ АВТОРАХ:

Байлар Садратдинович Иолчиев, ведущий научный сотрудник, доктор биологических наук, baylar1@yandex.ru
Людмила Александровна Волкова, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук
Наталья Александровна Волкова, руководитель лаборатории, доктор биологических наук

REFERENCES

1. Luo J., Wang W., Sun S. Research advances in reproduction for dairy goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* (AJAS). 2019;32(8):1284–1295.
2. Aibazov A.M.M., Aksyonova P.V., Seitov M.S. Modern biotechnological methods of directed reproduction of small ruminants. *Bulletin of the Orenburg State Agrarian University*. 2013;4(42):241–242. (In Russ.)
3. Aibazov A.M.M., Aksenova P.V., Kovalenko D.V. Biotechnological methods and techniques for intensifying the reproduction of sheep and goats. *Sheep, goats, woolen business*. 2013;(2):35. (In Russ.)
4. Guminская E.Yu., Babaeva S.S. Methods for assessing the biological usefulness of spermatozoa of bull-producers. *Vestnik MDPU name I. P. Shamyakin*. 2010;2(27):20–24. (In Russ.)
5. Boyko E.V., Koropets L.A., Kuzebny S.V. The relationship between the quantitative, qualitative and physiological parameters of the semen of bulls-producers of the Holstein breed. *Zootechnical science of Belarus*. 2015;50 (1):10–15. (In Russ.)
6. Novikov M.V., Shumilina N.N. Reproductive abilities and ways to increase the fertility of chinchilla (*Chinchilla laniger* Molina). *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;9(3):292–295. (In Russ.)
7. Tadzhieva A. V., Sulima N. N. Using the CASA method in assessing the quality of semen in bulls. *RUDN Bulletin. Series: Agronomy and Livestock*. 2015;(4):89–93. (In Russ.)
8. David I., Kohnke P., Lagriffoul G. Mass sperm motility is associated with fertility in sheep. *Animal Reproduction Science*. 2015;(161):75–81.
9. Pourlis, A.F. A review of morphological characteristics relating to the production and reproduction of fat-tailed sheep breeds. *Trop Anim Health Prod*. 2011;(43):1267–1287.
10. Mohammadzadeh S., Hoseini S.A., Kadivar A. Сравнительное изучение семени баранов романовской породы и породы Lori Bakhtiari. *Сельскохозяйственная биология*. 2018;(2):318–325.
11. Benia A.R., Saadi M.A., Ait-Amrane A., Belhamiti T.B., Selles S.M.A., Kaidi R. Effect of season and age on main characteristics of sperm production in the Ouled-Djellal rams. *Livestock Research for Rural Development*. 2018;(30):67–79.
12. Volpes A., Sammartano F., Rizzari S., Gullo, Marino A., Allegra A. The pellet swim-up is the best technique for sperm pre Separation during in vitro fertilization procedures. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(6):765–777.

ABOUT THE AUTHORS:

Baylar S. Iolchiev, Leading Researcher, Doctor of Biological Sciences, baylar1@yandex.ru
Lyudmila A. Volkova, senior researcher, candidate of biological sciences
Natalya A. Volkova, head of laboratory, doctor of biological sciences