



Генетический профиль антигенного состава крови баранов-производителей забайкальской породы разного направления продуктивности

енный на основании полученных данных по антигенному составу крови.

Итак, исходя из представленных данных следует отметить высокое генетическое сходство по группам крови у изучаемых популяций. Однако выявлены и определенные отличия по антигенам их крови. Наибольшее расхождение получено в распространении таких антигенов, как Aa, Be, Bg, Cb, Mb и Da, что следует объяснять разным генотипом продуктивности овец забайкальской породы.

Таким образом, впервые проведя исследование по полиморфным системам крови овец разных внутривидовых типов забайкальской тонкорунной пород, получили ценные сведения о генофонде породы, которые могут быть использованы в селекционном процессе по ее совершенствованию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гладырь Е.А., Селионова М.И., Зиновьева Н.А. Характеристика генофонда и выявление генеалогических связей между породами овец с использованием групп крови

и ДНК-микросателлитов // Овцы, козы, шерстяное дело. 2007. № 4. С. 19–25.

2. Селионова М.И. Генофонд и дифференциация тонкорунных пород овец Юга России по группам крови // Овцы, козы, шерстяное дело. 2004. № 1. С. 1–6.

3. Чижова Л.Н. Прогнозирование племенной ценности овец по биохимическим и генетическим маркерам // Овцы, козы, шерстяное дело. 2004. № 1. С. 1–2.

4. Чижова Л.Н. Роль иммуногенетических маркеров в селекции овец // Овцы, козы, шерстяное дело. 2007. № 4. С. 18–19.

5. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Natur. 1972. Vol. 106. № 949. P. 283–291.

Presents immuno-genetic characteristics of the blood of sheep producers of Transbaikalian breed in different inter-breed types.

Key words: sheep producers, inter-breed type, blood genotype the genetic structure, antigenic factor.

Вершинин Анатолий Сергеевич, канд. экон. наук, профессор, директор института, тел. (3022)39-34-17, e-mail: zabai@mail.ru; Мурзина Татьяна Васильевна, доктор с.-х. наук, доцент, декан факультета ДПО, Зорина Ирина Геннадьевна, аспирантка.

УДК 636:611.013.12:636.39

ВЛИЯНИЕ ВОССТАНОВЛЕННОГО ГЛУТАТИОНА НА КРИОУСТОЙЧИВОСТЬ СЕМЕНИ КОЗЛОВ

А.С. ЕРОХИН, И.Е. ПРИДАНОВА, С.А. ХАТАЕВ

Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела

Приводятся результаты влияния добавления в состав разбавителя семени козлов восстановленного глутатиона на устойчивость сперматозоидов к хранению в охлажденном и замороженном состоянии. Установлены оптимальные дозировки препарата, способствующие повышению подвижности, сохранности акросом и живучести сперматозоидов вне организма.

Ключевые слова: сперматозоиды козлов, восстановленный глутатион, подвижность и живучесть сперматозоидов, акросома, охлаждение, замораживание.

Известно, что при криоконсервации в сперматозоидах и семенной плазме животных может происходить окисление сульфгидрильных групп белков и активироваться процесс переписного окисления липидов, что способствует повреждению мембран, ДНК и других клеточных структур [1, 2, 3]. Мембраны сперматозоидов животных, в том числе и козлов, содержат высокий уровень ненасыщенных жирных кислот, а в цитоплазме клеток содержится не очень высокий уровень антиоксидантных соеди-

нений. Поэтому половые клетки высокочувствительны к перекисидации липидов, индуцируемой такими свободными радикалами как гидроксильные радикалы, супероксид-анион радикалы, перекись водорода, которые вызывают структурные повреждения мембранных структур сперматозоидов в процессе замораживания-оттаивания или хранения в охлажденном до 2–4 °С состоянии. При этом нарушается биологическая полноценность половых клеток и может значительно снижаться результативность искусственного осеменения самок [4, 5, 6]. Свободные радикалы способны нейтрализоваться антиоксидантными системами. По данным ряда исследователей, дополнительное введение антиоксидантов, в частности восстановленного глутатиона, в состав разбавителя семени для разных видов сельскохозяйственных животных способствует улучшению подвижности и живучести половых клеток, сохраняемых в охлажденном или замороженном состоянии [7, 8, 9].

В связи с этим, представляет интерес изучение возможности использования в качестве антиоксиданта восстановленного глутатиона в составе разбавителя семени козлов для повышения криоустойчивости половых клеток.

В задачу наших исследований входило изучение влияния данного препарата на подвижность, живучесть и сохранность акросом сперматозоидов козлов, сохраняемых в охлажденном или глубоко замороженном состоянии.

В экспериментах использовали сперму козлов зааненской породы в ООО «Красная Нива», Московской области. В первом эксперименте изучали влияние восстановленного глутатиона на подвижность, живучесть и целостность акросом у сперматозоидов, сохраняемых в охлажденном до 4 °С состоянии. Сразу после получения и оценки, цельные эякуляты козлов разбавляли 1:4 разработанной нами трис-фруктозо-трилоновой средой, дополнительно содержащей на 100 мл дистиллированной воды 2,5 мл желтка куриного яйца и антибактериальный препарат полиген – 30 мг. Перед разбавлением в состав среды вводили различные концентрации (0,02–0,32 мг/мл) восстановленного глутатиона (Sigma, США). Контрольные образцы семени разбавляли этой же средой, но без добавления глутатиона. Затем помещали разбавленную сперму для хранения в холодильник при 4 °С. Через определенные интервалы времени хранения определяли подвижность сперматозоидов, количество половых клеток с неповрежденной акросомой и показатель их живучести.

Во втором эксперименте выяснили защитное действие восстановленного глутатиона на устойчивость сперматозоидов козлов при глубоком замораживании до –196 °С. Сперму козлов разбавляли и замораживали в трис-глюкозно-лимоннокислой среде [10] с добавлением на 100 мл среды 5,3 мл глицерина, 2,5 мл желтка куриного яйца и 30 мг полигена. Свежеполученные цельные эякуляты, без предварительно-

го удаления семенной плазмы, разбавляли 1:3 данной средой, содержащей различные концентрации восстановленного глутатиона (0,02–0,16 мг/мл). Контрольные образцы семени разбавляли аналогичной средой, но без добавления глутатиона. После разбавления сперму эквilibрировали в холодильнике при 4 °С в течение 2 ч, замораживали в виде гранул объемом 0,2 мл на фторопластовой пластине при –80 °С и затем в жидком азоте до –196 °С. Оттаивали гранулы семени в гидрооттаивателе при 60 °С. Затем оттаянные образцы семени инкубировали в термобоксе при 37 °С и через определенные интервалы времени определяли подвижность сперматозоидов, количество сперматозоидов с неповрежденной акросомой и их живучесть при данной температуре.

Влияние глутатиона на подвижность и живучесть сперматозоидов козлов, сохраняемых в охлажденном до 4 °С состоянии, представлено в табл. 1.

Из данных табл. 1 видно, что добавление глутатиона в состав среды для хранения спермы при 4 °С оказало положительное влияние на живучесть сперматозоидов, особенно при использовании в дозировке 0,04 мг/мл среды. В этой группе подвижность сперматозоидов была значительно выше, по сравнению с контрольной и другими опытными группами, особенно с 6-го по 10-й дни хранения. Например, на 6 и 8-й день хранения подвижность в группах с добавлением 0,02 и 0,04 мг глутатиона/мл среды была соответственно выше, чем в контроле на 10 и 20% ($P < 0,05$). Более высокая дозировка препарата (0,16 мг/мл) оказала отрицательное влияние на подвижность и живучесть сперматозоидов при данной температуре хранения, начиная с первого дня хранения.

Таблица 1

Влияние восстановленного глутатиона на подвижность и живучесть сперматозоидов козла при 4 °С ($n = 5$)

Концентрация глутатиона, мг/мл среды	Дни хранения						Показатель живучести, %
	1	2	4	6	8	10	
	Подвижность сперматозоидов, %						
0,02	85	77	70	35	20	2,5	118
0,04	82	79	69	35	30	8,3	120
0,08	82	66	48	7	4	0	115
0,16	60	50	38	5	0	0	112
Контроль	83	75	65	25	10	0	100

Таблица 2

Влияние глутатиона на количество сперматозоидов с неповрежденной акросомой при хранении в охлажденном состоянии

Концентрация глутатиона, мг/мл среды	Дни хранения					
	1	2	4	6	8	10
	Подвижность сперматозоидов, %					
0,02	87	83	76	60	48	37
0,04	89	82	72	65	51	43
0,08	87	85	70	58	47	40
0,16	81	70	62	54	42	33
Контроль	83	75	69	59	40	33

Таблица 3

Влияние восстановленного глутатиона на подвижность сперматозоидов после замораживания-оттаивания ($n = 6$)

Концентрация глутатиона, мг/мл среды	Время хранения оттаянной спермы при 37 °С, ч						
	Сразу после оттаивания	1	2	3	4	5	6
	Подвижность оттаянных сперматозоидов, %						
0,02	45	40	33	28	20	9	4
0,04	47	42	35	27	15	11	8
0,08	43	42	32	23	15	7	4
Контроль	39	32	27	21	12	3	0

Таблица 4

Влияние глутатиона на количество сперматозоидов с неповрежденной акросомой после замораживания-оттаивания

Концентрация глутатиона, мг/мл среды	Время инкубации оттаянной спермы при 37 °С, ч					
	0	1	2	3	4	5
	Сперматозоидов с интактной акросомой, %					
0,02	69	69	65	62	60	56
0,04	73	71	70	67	63	60
0,08	71	68	62	59	57	51
Контроль	65	58	54	54	50	46

Добавление глутатиона в этих концентрациях, также оказало положительное влияние на сохранность акросомной мембраны у сперматозоидов в процессе их хранения в охлажденном состоянии (табл. 2). В группах с добавлением данных дозировок препарата, количество сперматозоидов с интактной акросомой на 8-й день хранения было достоверно выше, соответственно, на 8 и 11 % по сравнению с контролем, а на 10-й день хранения – выше на 4 и 10 % ($P < 0,05$).

Результаты эксперимента по влиянию добавления восстановленного глутатиона в состав разбавителя на устойчивость сперматозоидов козлов к глубокому замораживанию приведены в табл. 3. Как видно, введение глутатиона в состав среды для замораживания семени козлов при всех изученных дозах, оказало выраженное защитное влияние на криоустойчивость сперматозоидов. Более заметный положительный эффект отмечен в группе с дозой 0,04 мг препарата/мл. в этой группе сразу после оттаивания подвижность сперматозоидов была выше на 8 % по сравнению с контролем ($P < 0,05$).

Кроме того, подвижность сперматозоидов, сохраняемых после оттаивания при 37 °С, в этой группе была достоверно выше, чем в контрольной на протяжении всего периода анализов.

Добавление восстановленного глутатиона в состав разбавителя для замораживания спермы козлов оказало положительное влияние и на живучесть оттаянных сперматозоидов при 37 °С. Более заметный эффект наблюдался в группе с добавлением 0,04 мг/мл препарата. Живучесть оттаянных сперматозоидов в этой группе была на 19 % выше, чем в контроле ($P < 0,05$).

Сохранность акросом у сперматозоидов после оттаивания также была выше в опытных группах

в сравнении с контролем (табл. 4). Более высокий процент сперматозоидов с неповрежденной акросомой сразу после оттаивания был в группах с добавлением 0,04 и 0,08 мг/мл препарата: 73 и 71 % против 65 % в контроле. Эта же закономерность сохраняется на протяжении всего периода инкубации сперматозоидов при 37 °С.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что добавление восстановленного глутатиона в оптимальной дозировке в состав разбавителя семени козлов оказывает защитный эффект на подвижность, со-

хранность акросом и живучесть половых клеток как при хранении в охлажденном состоянии, так и подвергнутых процессу глубокого замораживания. В этой связи необходимы дальнейшие исследования с целью изучения влияния восстановленного глутатиона на оплодотворяющую способность криоконсервированной спермы козлов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aitken R.J., Clarkson L.S., Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and human sperm function // *Biology Reproduction*. 1989. V. 40. P. 183–197.
 2. Ерохин А.С., Деряженцев В.И., Аксютин М.С. Изучение перекисного окисления липидов в сперматозоидах барана и быка методом индуцированной хемилюминесценции // *Доклады ВАСХНИЛ*. 1992. № 1. С. 50–53.
 3. Sanoaka D.M., Kurpiz M. Reactive oxygen species and sperm cells // *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2004. V. 2. P. 12–18.
 4. Gadea J., Selles E., Marco M., Coy P., Matas C., Ruiz S. Decrease in glutathione content in boar sperm after cryopreservation. Effect of the addition of reduced glutathione to the freezing and thawing extenders // *Theriogenology*. 2004. V. 62. P. 690–701.
 5. Agarwal A., Prahakaran S., Said T. Prevention of oxidative stress injury to sperm // *J Androl*. 2005. V. 26. P. 653–660.
 6. Chatterjee S., De Lamirande E., Gagnon C. Cryopreservation alters membrane sulfhydryl status of bull spermatozoa: protection by oxidized glutathione // *Mol. Reprod. Dev.* 2001. V. 60. P. 498–506.
 7. Lubarda Z. The role of glutathione in mammalian gametes // *Reprod. Biol.* 2005. V. 5. P. 5–17.
 8. Uysal J., Bucak M. Effect of oxidized glutathione, bovine serum albumin, cysteine and lycopene on quality of frozen-thawed ram semen // *Acta Vet. Brno*. 2007. V. 76. P. 383–390.
 9. Ерохин А.С., Дунин М.И. Влияние восстановленного глутатиона на устойчивость семени хряков к хранению в охлажденном и замороженном состоянии // *Зоотехния*. 2013. № 9. С. 31–32.
 10. Evans G., Maxwell W.M. Salomon's artificial insemination of sheep and goats. Sydney, 1987.
- The results of the impact of the addition of the diluent seed goats reduced glutathione on the stability of sperm storage in chilled and frozen. The optimal dosage of the drug that improve mobility, safety and survivability of sperm acrosome outside the body.*

Key words: sperm goats, reduced glutathione, mobility and survivability of sperm acrosome, chilling, freezing.

Ерохин Анатолий Сергеевич, доктор биол. наук, профессор, тел. (916) 185-63-82, Приданова Ирина Евгеньевна, науч. сотрудник, Хатаев Салауди Абдулхаджиевич, доктор с.-х. наук, гл. науч. сотрудник, ВНИИплем.