

the nuclear-cytoplasmic ratio and the achievement of a maximum (0.47 ± 0.008 ed). However, by the age of nine months, the indicator declines in sheep. At 12 months, the nuclear-cytoplasmic ratio becomes equal to that of newborn animals (0.36 ± 0.008 ed).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ветчинникова А.Б., Сеитов М.С., Давлетбердин Д.Ф., Биктеев Ш.М. Топография щитовидной и парашитовидной желез овец эдильбаевской породы // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2010. № 3 (27). С. 191-192.
2. Зеленевский, Н. В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура. Пятая редакция // СПб.: «Лань». 2013. 400 с.
3. Малыхин А. С., Кочеткова Н. А., Мерзленко Р. А. Сравнительная оценка концентрации гормонов щитовидной железы и коры надпочечников у кошек разных пород // Международный вестник ветеринарии. 2021. № 1. С. 268-273.
4. Мирзаханов М.К., Атагимов М.З. Аденогипофиз и щитовидная железа взрослых овец дагестанской горной породы // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2011. № 1 (29). С. 75-77.

5. Романова Т. В., Безрук Е. Л. Морфофункциональная характеристика щитовидной железы у овец в республике Хакасия // Аграрное образование и наука - в развитии животноводства Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 70-летию докт. с-х. наук, проф. Любимова А. И. 2020. С. 311-317.

6. Рычкова В.В. Применение иммуногистохимических методик для изучения щитовидной железы собак в экспериментальных условиях // Морфология. 2009. Т. 136. № 4. С. 122-123.

7. Семченко В.В., Барашкова С.А., Ноздрин В.И., Артемьев В.Н. Гистологическая техника // Омская областная типография. 2006. с. 65.

8. Токарь В. В. Патология щитовидной железы у овец при йодной недостаточности: клинко-морфологический, биохимический, иммунологический, гормональный статус автореф. дис. ... канд. вет. наук 16.00.01 - диагностика болезней и терапия животных / Улан-Уде. 2005. 21 с.

УДК 575:612.616:636.1:579.63

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ САПРОФИТНОЙ КОНТАМИНАЦИИ СПЕРМЫ ЖЕРЕБЦОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ АНТИГЕНОВ ГРУППЫ КРОВИ D

Савченко И.Ю. (ORCID 0000-0001-6985-4416) – асп., ФГБОУ ВО «Белгородский государственный аграрный университет имени В.Я.Горина», Ткачев А.В. (ORCID 0000-0002-7721-5742) - д. с.-х. н., профессор, ФГБОУ ВО «Белгородский государственный аграрный университет имени В.Я.Горина»

Ключевые слова: физиология, сперма, жеребец, иммуногенетика, эритроцитарные антигены. **Key words:** physiology, sperm, stallion, immunogenetic, erythrocyte antigens.



РЕФЕРАТ

В статье впервые исследована взаимосвязь иммуногенетических характеристик по аллелям системы группы крови D жеребцов с физиологическим уровнем бактериальной контаминации их спермы. В среднем по всем эякулятам общая бактериальная контаминация нативной спермы имела допустимый уровень до 5000 КОЕ/см³, а количество кишечной палочки была меньше 800 КОЕ/см³. Мы не утверждаем, что аллели системы групп

крови влияют на контаминации спермы, но, как и у человека аллели систем групп крови у жеребцов могут способствовать разной контаминации спермы из-за активности неспецифической резистентности организма животных. Наибольшее влияние на уровень общей бактериальной контаминации нативной спермы у жеребцов имели аллели системы группы крови D. Степень влияния аллелей системы группы крови D составляет на общую бактериальную обсемененность и количество колониеобразующих единиц бактерий группы кишечной палочки соответственно 22,9 % ($p < 0,01$) и 10,7 % ($p < 0,01$). При наличии у подопытных жеребцов аллелей системы группы крови D ad/de, bcm/dk, cgm/de, cgm/dg, dg/cgm, dg/dk, dk/dk в среднем наблюдалась низкая общая бактериальная контаминация нативной спермы до 2000 КОЕ/см³; при аллелях ad/cgm, ad/d, ad/dk, bcm/d, cgm/d, cgm/dk, cgm/ceg, cgm/cgm, cgm/d, cgm/dk, de/cgm, de/dk, dk/d, dk/de - средний допустимый уровень бактерий 2000-4000 КОЕ/см³; контаминация нативной спермы от 4000 до 5000 КОЕ/см³ наблюдалась при наличии у жеребцов аллелей ad/bcm, dg/di, de/d, cgm/dg, bcm/cgm, bcm/de; при выявлении у подопытных жеребцов bcm/dg и cgm/cgm аллелей системы группы крови D общая бактериальная контаминация нативной спермы была в среднем больше максимально допустимого уровня в 5000 КОЕ/см³.

ВВЕДЕНИЕ

В физиологии и ветеринарной медицине мира и России существует очень много научных исследований негативно-го влияния микробиологической контаминации спермы сельскохозяйственных животных результативность ее замораживания и последующего искусственного осеменения самок [1-3]. Однако в коневодстве России и мира практически отсутствуют исследования факторов, от которых может зависеть сапрофитная контаминация спермы жеребцов, а именно - влияние иммуногенетических аллелей систем групп крови жеребцов на физиологический уровень общей бактериальной контаминации их спермы.

Сегодня известно множество физиологических факторов, влияющих на показатели свежеполученной спермы жеребцов: порода, возраст, общее физиологическое состояние, цитогенетические факторы и т.д. [4-8]. Однако влияние иммуногенетических факторов на показатели нативной спермы изучается недостаточно. В коневодстве влияние групп крови на фертильность доказали еще в 40-х годах XX века. Тогда было показано, что в случае наследования плодом эритроцитарного аллеля жеребца, которого нет у кобылы, иммунная система последней начинает вырабатывать против плода антитела. Это может

приводить к прохолостам, повышению эмбриональной смертности и гемолитической болезни новорожденных жеребят. Затем Mahon G. и Cunningham E. подтвердили, что высокая эмбриональная смертность и низкий выход жеребят может быть вызван иммуногенетической несовместимостью жеребца и кобылы, подобного резус-конфликту у человека [9-10]. Однако практикующие специалисты в коневодстве России этот научно доказанный факт необоснованно игнорируют.

В гуманной медицине влияние групп крови на предрасположенность к заболеваниям у человека исследуется с 20-х годов XX века. Исследования на людях показывают, что безусловно, группу крови человека нельзя назвать причиной возникновения болезни, но группа крови влияет на риск развития и характер течения того или иного заболевания. Поскольку каждый тип крови - это особая система защиты организма от вирусов, бактерий, токсичных соединений и т.д. Антигены, прикрепленные к кровяным клеткам, являются главными хранителями любого организма и в разных группах крови они по-разному реагируют выработкой антител на вторжение инфекции в организм человека, а также на некоторые продукты питания, которые потребляют люди. Доказано, что люди с первой группой крови

на 35 % более склонны к заболеванию язвы желудка. Люди со второй группы крови подвержены гипoaцидному гастрита, острого лейкоза, хронического холецистита и др. Третья группа крови повышает риск возникновения опухолей прямой кишки, а четвертая - развития рака желудка [11]. Физиологические закономерности, установленные для организма человека могут присутствовать и у других видов млекопитающих. Этот тезис и стал предпосылкой проведения нами представленного исследования, так как в доступной литературе нам не удалось найти данных о характере влияния аллелей систем групп крови жеребцов на физиологическую бактериальную контаминацию их спермы.

Цель данного исследования – установить физиологические особенности сапрофитной контаминации спермы жеребцов в зависимости от эритроцитарных антигенов по системе группы крови D.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в России на 69 жеребцах-производителей 9 пород, принадлежащих конным заводам, племпредукторам, конно-спортивным клубам Белгородской, Воронежской, Курской и других областей. Получение спермы выполняли по Харьковской технологии на стерильную искусственную вагину со стерильным спермоприёмником и проведением санитарной обработки жеребцов перед получением эякулятов [3]. Колониеобразующие единицы (КОЕ) общей бактериальной обсемененности и бактерий группы кишечной палочки в свежеполученной сперме жеребцов определяли соответственно на среде МПА (Sigma, США), средах Булира и Эндо (Sigma, США) с соблюдением требований стерильности по методикам ГОСТ 3535-97 «Сперма быков нативная» и ГОСТ 20909.2-75 «Сперма быков неразбавленная. Методы микробиологических исследований» в зависимости от иммуногенетического профиля по аллелям D системы групп крови. Иммуногенетические исследования крови жеребцов проводили в лаборатории генетики Института животноводства НААН России. Для этого опре-

деляли эритроцитарные антигены в крови жеребцов с применением стандартных сывороток-реагентов которые идентифицированы с международными стандартными реагентами и произведены в лаборатории генетики НИИ коневодства России: Aa, Ad, Ca, Da, Db, Dc, Dd, De, Dg, Dk, Ka, общепринятыми методиками [12]. При определении генотипов по группам крови в каждой системе определяли оба аллеля, унаследованные от родителей. Обозначали генотипы через черту: аллель до черты - унаследован от отца, аллель после черты – унаследован от матери (например по D-системе групп крови: bcm/dk)

Статистическую обработку полученных данных проводили общепринятыми методиками вариационной статистики. Корреляционно-дисперсионный анализ выполняли с использованием специализированного пакета прикладных программ SPSS for Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Для выполнения поставленной цели был проведен анализ полученных данных физиологических показателей общей бактериальной загрязненности и абсолютного количества колониеобразующих единиц бактерий группы кишечной палочки (БГКП) нативной спермы на 1676 эякулятах в разрезе иммуногенетических аллелей групп крови D. Во всех случаях нативная сперма жеребцов имела допустимый уровень коли-титра 1:10.

Данные анализа полученных данных в разрезе влияния эритроцитарных антигенов системы группы крови D на уровень физиологической бактериальной контаминации нативной спермы жеребцов представлено в таблице. Из данных таблицы видно, что в среднем по всем 1676 полученных эякулятах сапрофитная общая бактериальная контаминация нативной спермы имела допустимый уровень до 5000 КОЕ/см³, а количество кишечной палочки была меньше 800 КОЕ/см³. Однако при проведении анализа полученных данных в разрезе иммуногенетических аллелей систем групп крови D становится

Таблица

**Влияние эритроцитарных антигенов системы группы крови D на уровень сапро-
фитной контаминации нативной спермы жеребцов (M±m)**

Аллели системы группы крови D	Количество эякулятов	Общая бактериальная загрязненность, КОЕ/см ³	Бактерии группы кишечной палочки, КОЕ/см ³
до 2000 КОЕ/см ³ , низкая допустимая контаминация			
ad/de	36	1265,0 ±25,5	2113,05 ±323,75
bcm/dk	130	1767,34 ±105,14	474,96 ±104,27
cgm/de	52	807,0 ±88,92	343,55 ±149,62
cgm/dg	60	1593,21 ±140,19	607,45 ±116,45
dg/cgm	14	1623,64 ±38,24	1171,93 ±503,56
dg/dk	19	937,16 ±97,23	797,0 ±75,07
dk/dk	32	1315,72 ±39,11	156,13 ±50,49
2000 – 4000 КОЕ/см ³ , средняя допустимая контаминация			
ad/cgm	12	2336,3 ±75,41*	561,08 ±362,63
ad/d	16	3147,37 ±32,78**	976,5 ±253,31
ad/dk	14	2612,85 ± 48,43*	1961,64 ±414,19
bcm/d	34	2583,14 ±81,54*	779,97 ±256,17
cegm/d	25	3749,6 ±236,04**	18,12 ± 1,46
cegm/dk	52	2648,9 ±292,15*	850,06 ±170,16
cgm/cegm	15	2766,67 ±42,72*	1795,6 ±352,23
cgm/cgm	89	3327,25 ±89,34**	625,98 ±114,23
cgm/d	29	3391,72 ±450,67**	705,38 ±68,69
cgm/dk	58	2340,22 ±117,32*	284,43 ±80,97
de/cgm	8	2487,5 ±36,29*	819,62 ±508,62
de/dk	114	2927,62 ±112,76*	1140,61 ±142,97
dk/d	80	3062,05 ±157,18**	917,51 ±134,21
dk/de	29	2553,24 ±62,76 *	603,0 ±190,09
4000 – 5000 КОЕ/см ³ , высокая допустимая контаминация			
ad/bcm	17	4092,0 ±62,41***	615,76 ±172,85
dg/di	16	4029,37 ±29,62***	1929,94 ±374,57
de/d	27	4903,51 ±636,94***	407,88 ±54,97
cegm/dg	33	4005,93 ±72,74***	1122,0 ±251,65
bcm/cgm	107	4447,49 ±427,46***	274,75 ±33,32
bcm/de	110	4249,75 ±356,12***	678,52 ±100,92
более 5000 КОЕ/см ³ , повышенный уровень контаминации			
bcm/dg	110	5365,83 ±646,68***	875,21 ±113,11
cegm/cgm	33	12574,24 ±401,8***	824,09 ±229,99
контроль			
Не определяли аллели	305	8623,51 ±574,0***	966,15 ±67,87
всего			
В среднем по всех эякулятах	1676	4267,0 ± 137,25	780,61 ±29,23

Примечание. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ (в сравнении с низкой допустимой контаминацией спермы жеребцов).

видна разница бактериальной контаминации спермы между производителями имеющих различные аллели. Мы не утверждаем, что эритроцитарные антигены влияют на контаминации спермы, но, они могут способствовать разной контаминации спермы из-за активности неспецифической резистентности организма животных. Полученные иммуногенетические данные позволили нам впервые разделить производителей на тех, которые имеют низкую допустимую общую бактериальную контаминацию до 2000 КОЕ/см³ с аллелями ad/de, bcm/dk, cgm/de, cgm/dg, dg/cgm, dg/dk, dk/dk. Средняя общая бактериальная контаминация 2000-4000 КОЕ/см³ наблюдалась при обнаружении иммуногенетических аллелей ad/cgm, ad/d, ad/dk, bcm/d, cgm/d, cgm/dk, cgm/ceg, cgm/cgm, cgm/d, cgm/dk, de/cgm, de/dk, dk/d, dk/de, что было достоверно больше ($p < 0,05-0,01$) по сравнению с предыдущей группой. Высокая допустимая общая бактериальная контаминация нативной спермы жеребцов наблюдалась при обнаружении иммуногенетических аллелей ad/bcm, dg/di, de/d, cgm/dg, bcm/cgm, bcm/de что было достоверно больше ($p < 0,001$) по сравнению с низкой допустимой физиологической контаминацией спермы. Если подопытные производители характеризовались наличием bcm/dg и cgm/cgm эритроцитарных антигенов системы группы крови D общая бактериальная контаминация нативной спермы была больше максимально допустимого уровня в 5000 КОЕ/см³.

Интересной физиолого-генетической тенденцией в нашем исследовании было то, что в контрольных эякулятах, полученных от жеребцов без определения иммуногенетических аллелей систем групп крови сапрофитная контаминация нативной спермы была в 2 раза больше ($p < 0,001$), чем в среднем по всем эякулятам и отсутствие физиолого-генетических тенденций по количеству бактерий группы кишечной палочки, что лишь подтверждает обнаруженную нами предрасположенность к различной контаминации спермы при различных эритроцитарных антигенах систем групп крови.

Установлено, что степень влияния эритроцитарных антигенов системы группы крови D на общую бактериальную загрязненность составляет 22,9 % ($p < 0,01$), на количество колониеобразующих единиц бактерий группы кишечной палочки 10,7 % ($p < 0,01$).

Таким образом, впервые установлена физиолого-генетическая взаимосвязь эритроцитарных антигенов систем групп крови D жеребцов с уровнем сапрофитной бактериальной контаминации нативной спермы.

ВЫВОДЫ

Впервые в физиологии лошадей установлено, что иммуногенетические характеристики по аллелям D системы групп крови жеребцов обуславливают предрасположенность к уровню сапрофитной контаминации нативной спермы. У подопытных жеребцов степень влияния эритроцитарных антигенов группы крови D на общую бактериальную обсемененность и количество бактерий группы кишечной палочки составляет соответственно 22,9 % ($p < 0,01$) и 10,7 % ($p < 0,01$). При наличии у жеребцов иммуногенетических аллелей системы группы крови D ad/de, bcm/dk, cgm/de, cgm/dg, dg/cgm, dg/dk, dk/dk в среднем наблюдалась низкая общая бактериальная контаминация нативной спермы до 2000 КОЕ/см³; при аллелях ad/cgm, ad/d, ad/dk, bcm/d, cgm/d, cgm/dk, cgm/ceg, cgm/cgm, cgm/d, cgm/dk, de/cgm, de/dk, dk/d, dk/de - средний допустимый уровень бактерий 2000-4000 КОЕ/см³; контаминация нативной спермы от 4000 до 5000 КОЕ/см³ наблюдалась при наличии у жеребцов аллелей ad/bcm, dg/di, de/d, cgm/dg, bcm/cgm, bcm/de; при выявлении у подопытных жеребцов носителей bcm/dg и cgm/cgm аллелей системы группы крови D общая бактериальная контаминация нативной спермы была в среднем больше максимально допустимого уровня в 5000 КОЕ/см³.

Physiological features of saprophytic contamination of stallion sperm depending on erythrocyte antigens of blood group D. Savchenko I.Yu. – PhD student, Tkachev A.V. - Doctor of Agricultural Sciences, Professor, FGBOU VO "Belgorod State Agricultural University named after V. Gorin".

ABSTRACT

The article first studied the relationship immunogenetic characteristics of alleles for blood group sys-

tems D stallions with physiological levels of bacterial contamination of their sperm. For the first time it found that the system test stallions breeding blood groups have different effects on the level of contamination of the physiological sperm. The average for all 1676 obtained ejaculate total bacterial contamination of native sperm was permissible level of 5000 CFU/cm³, and the number of *E. coli* was less than 800 CFU/cm³. We do not claim that the alleles of the blood group systems affect sperm contamination, but as a human blood group alleles systems of horses may contribute to contamination of various sperm due to the activity of non-specific resistance of the animal organism. The greatest impact on the overall level of bacterial contamination of native sperm from stallions allele had blood group system D. The degree of influence of alleles blood group system D is for the total bacterial contamination and the number of colony forming units of *Escherichia coli* respectively 22.9 % ($p < 0.01$) and 10.7% ($p < 0.01$). In the presence of the experimental stallions alleles blood group system D ad/de, bcm/dk, cgm/de, cgm/dg, dg/cgm, dg/dk, dk/dk on average, there is a low total bacterial contamination of native sperm to 2000 CFU/cm³; when alleles ad/cgm, ad/d, ad/dk, bcm/d, cegm/d, cegm/dk, cgm/ceg, cgm/cgm, cgm/d, cgm/dk, de/cgm, de/dk, dk/d, dk/de - the average acceptable level of bacteria 2000-4000 CFU/cm³; contamination of native sperm from 4000 to 5000 CFU/cm³ was observed in the presence of horses alleles ad/bcm, dg/di, de/d, cegm/dg, bcm/cgm, bcm/de; in identifying the experimental stallions bcm/dg and cegm/cgm alleles blood group system D total bacterial contamination of native sperm was on average greater than the maximum permissible level of 5000 CFU/cm³.

ЛИТЕРАТУРА

1. Katila T. In Vitro evaluation of frozen-thawed stallion semen: a review / T. Katila // *Acta vet. Scand.* – 2001. - № 42. – P. 199 – 217.
2. Ткачѐв А.В. Влияние времени искусственного осеменения относительно овуляции на оплодотворяемость кобыл / Ткачѐв А.В., Шеремета В.И., Ткачѐва О.Л. // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.* - 2016. - Т. 18. - № 2-2 (67). - С. 241-244.
3. Ткачѐв А.В. Гормональный фон жеребцов под влиянием максимально допустимых уровней микотоксинов корма в Украине / А.В. Ткачѐв // *Вестник НГАУ.* – 2014. - № 4 (33). – С. 115-119.
4. Ткачѐв А.В. Влияние допустимых концентраций микотоксинов корма на резистентность и контаминацию спермы жеребцов-производителей в Украине / А.В. Ткачѐв // *Животноводство и ветеринарная медицина.* – 2015. - № 3 (14). - С. 3-7.
5. Ткачов О.В. Вплив санації препуціальної порожнини та сперми жеребців на ефективність штучного осіменіння кобил / О.В. Ткачов // *Вестник Сумского национального аграрного университета.* - 2014. - № 2-1. - С. 178-181.
6. Ткачѐв А. В. Цитогенетический статус жеребцов под влиянием допустимых уровней микотоксинов корма / А.В. Ткачѐв // *Молекулярная и прикладная генетика.* – 2015. - № 19. – С. 79-84.
7. Ткачѐв А.В. Бактериальная контаминация спермы жеребцов-производителей на разных биотехнологических этапах криоконсервации / А.В. Ткачѐв, В.А. Калашников, А.Б. Сушко // *Научно-технический бюллетень Института животноводства Национальной академии аграрных наук Украины.* - 2011. - № 104. - С. 208-212.
8. Hemolytic disease of newborn foals due to isoimmunisation of pregnancy / R. Coombs, R. Crowhurst, P. Day [et al.] // *J.Hyd.* – 1948. – № 46. – P. 403-418.
9. Mahon G., Cunningham E. Inbreeding and the inheritance of fertility in the thoroughbred mare // *Lavestock Prod. Sci.* – 1982. - № 9 (6). – P.743-754.
10. Ткачѐв А.В. Влияние иммуногенетических факторов на эффективность искусственного осеменения и естественной случки лошадей на Украине // *Фундаментальные исследования.* – 2013. - № 10 (2). – С. 371-374.
11. Anstee D.J. The relationship between blood groups and disease // *Blood.* – 2010. - № 115. – P. 4635-4643.
12. Дубровская Р.М., Стародумов И.М. Методические рекомендации по использованию иммуногенетических маркеров для оценки изменений структуры популяций (пород) лошадей // *ВНИИ коневодства.* – 1995. – 34 с.