

«Индекс фрагментации ДНК
сперматозоидов как надёжный инструмент
определения фертильности у животных»

Рудняев Дмитрий Александрович
ФГБУ «Всероссийский государственный центр
качества и стандартизации лекарственных
средств для животных и кормов (ВГНКИ)»,
главный специалист

Актуальность

- ❧ Результативность искусственного осеменения животных напрямую зависит от жизнеспособности спермиев, их функциональных показателей и оплодотворяющей способности в половом аппарате самки.
- ❧ На первый план выходят инновационные методы контроля морфофункциональных качеств спермопродукции, позволяющие наиболее полно и объективно оценить репродуктивную способность самцов-производителей.

Цели и задачи

Цель:

- изучить показатели фертильности спермы баранов – производителей Дагестанской горной породы с использованием инновационного метода определения индекса фрагментации ДНК сперматозоидов.

Задачи:

- Установить индекс фрагментации ядерной и митохондриальной ДНК, как фактор дисфункции спермиев в свежеполученной сперме баранов-производителей;
- Сделать выводы по результатам исследований о пригодности спермы баранов-производителей для использования в искусственном осеменении

Материалы и методы исследований

- ❧ **Материалом для исследования** послужила свежеполученная сперма в количестве 20 биопроб от 10 баранов-производителей Дагестанской горной породы в возрасте 2-3 года.
- ❧ **Методика**, используемая для определения индекса фрагментации ДНК сперматозоидов, была взята из раздела «Методы морфологического анализа» Методических рекомендаций «Биологический мониторинг качества спермы, разделённой по полу быков-производителей. Методы исследований физических, биологических свойств и морфофункциональный анализ сексированного семени» (утверждено Российской Академией наук)

Сущность метода

- ④ **основан на метахроматических свойствах флюоресцентного красителя акридиновый оранжевый**
- ④ **реагент способен изменять флюоресценцию от зеленого до красного в зависимости от того, присутствуют ли разрывы цепочек ДНК в головной части спермия**
- ④ **проводится окрашивание сперматозоидов этим флюорохромом после индуцирования слабой кислотой**
- ④ **сперматозоиды флуоресцируют зелёным цветом при связывании красителя с нормальной двухцепочечной молекулой ДНК и красным цветом при взаимодействии с разорванными (фрагментированными) ДНК.**

Результаты исследований



- исследовано 20 биопроб свежеполученной спермы баранов-производителей
- Мазки окрашивались в соответствии с методикой и исследовались методом микроскопии с использованием флуоресцентного микроскопа
- выявлено 4 образца спермы баранов из 20 с индексом фрагментации более 30 %
- данная спермопродукция подлежит выбраковке и не допускается для искусственного осеменения овцематок.

Результаты исследований

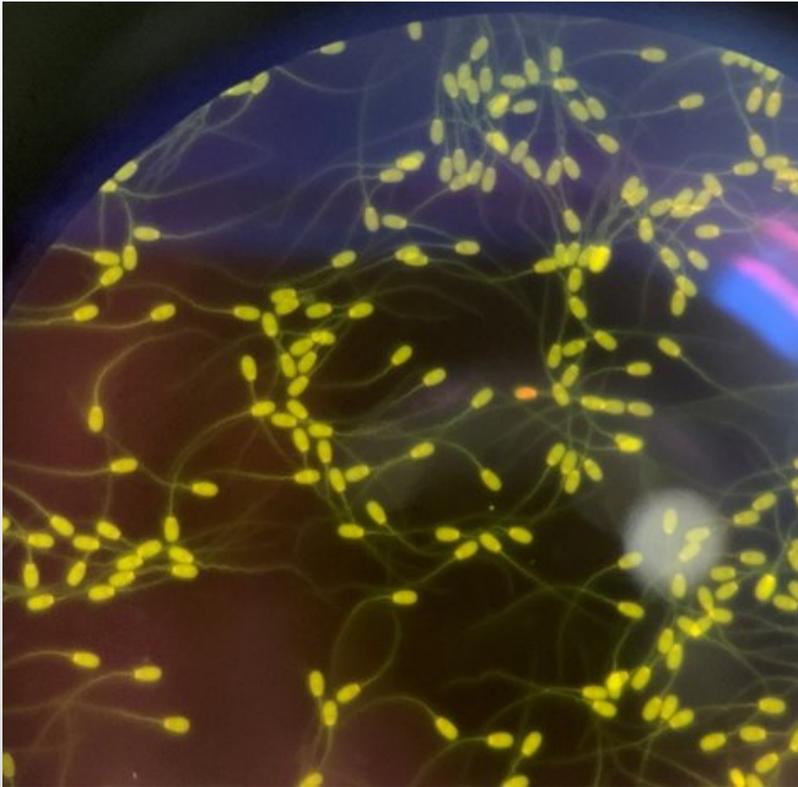


Рис. 1 Нефрагментированная ДНК сперматозоида (окрашенные сперматозоиды зелёного цвета) Ув. 100[×]. Объектив 20х/0,2х

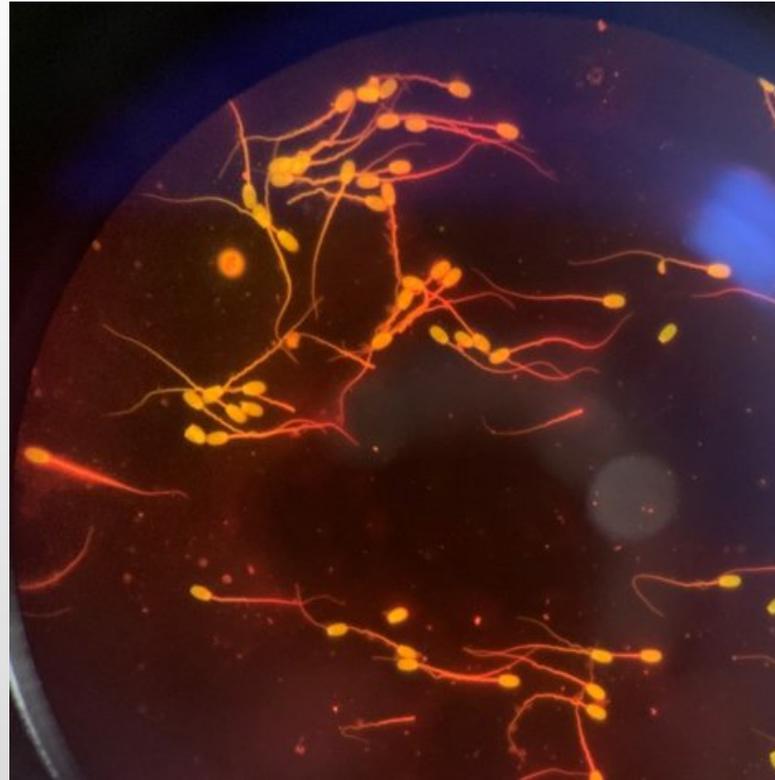


Рис. 2 Фрагментированная ДНК сперматозоида (окрашенные сперматозоиды жёлтого и красного цвета) Ув. 100[×]. Объектив 20х/0,2х

Вывод:

Использование метода определения индекса дефрагментации ДНК сперматозоидов является надёжным инструментом в определении фертильности баранов-производителей.

Практические рекомендации:

- ❖ Метод определения индекса фрагментации ДНК сперматозоидов может использоваться для определения фертильности у любых видов сельскохозяйственных животных.
- ❖ Метод объективный, т.к. позволяет определить целостность хроматина, что является существенным требованием при передаче генетической информации
- ❖ Метод быстрый, достаточно прост в исполнении и имеет низкую себестоимость

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!