

ОПЫТ АПРОБАЦИИ ЭКСПРЕСС-ТЕСТА ОЦЕНКИ ФРАГМЕНТАЦИИ ДНК СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Шубина М. А., Корочкина Е. А.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

*Полученные данные определяют важность проведения оценки степени фрагментации ДНК сперматозоидов быков-производителей. Кроме того, целесообразным является включение данного метода в протокол спермограммы с целью установления репродуктивного потенциала производителей. **Ключевые слова:** быки-производители, сперматозоиды, оценка фрагментации ДНК, спермограмма.*

EXPERIENCE OF TESTING THE RAPID TEST FOR ASSESSING DNA FRAGMENTATION OF SPERMATOSOIDS OF STUD BULLS

Shubina M.A., Korochkina E.A.

Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, Saint Petersburg, Russian Federation

*The obtained data determine the importance of assessing the degree of DNA fragmentation of spermatozoa of stud bulls. In addition, it is advisable to include this method in the spermogram protocol in order to establish the reproductive potential of producers. **Keywords:** stud bulls, spermatozoa, DNA fragmentation assessment, spermogram.*

Введение. Плодотворное осеменение животных является ключевым аспектом рентабельности животноводческих хозяйств и определяется как репродуктивным здоровьем самки, так и качеством спермы самца.

Фертильность самца – это способность к созданию жизнеспособного потомства. Она оценивается по таким параметрам как морфология, подвижность, жизнеспособность, целостность акросомы. Специалистами в области андрологии и вспомогательных репродуктивных технологий в результате многочисленных исследований определен еще один важный критерий оценки качества спермы – фрагментация ДНК. По мнению Agarwal A. (2003), фрагментация ДНК сперматозоидов является наиболее частым нарушением ультраструктуры сперматозоидов [3]. Vaumber J. с соавт. (2003) отмечают, что установление степени фрагментации ДНК сперматозоидов в настоящее время является одним из самых быстрых и современных методов исследования спермы [4, 5]. В настоящее время существует достаточно большое количество методов определения степени фрагментации ДНК, основными из которых являются: TUNEL (Dcoхynuclcotidyl Transferasesd UTP Nick End Labeling) – маркировка концов разорванной молекулы, SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay) – исследование дисперсии хроматина сперматозоидов, Comet (Single-cell gel electrophoresis assay, Comet assay) –

способен выявить разрывы в одиночных клетках, SCD (Sperm Chromatin Dispersion test) – тест на дисперсию хроматина и др. Основное преимущество данных методов – точность и достоверность. Недостатком является – высокая стоимость реагентов и оборудования (например, проточный цитометр). В связи с этим, разработаны методы экспресс-диагностики.

Целью настоящего исследования явилось определение степени фрагментации ДНК сперматозоидов быков-производителей при помощи набора экспресс-диагностики Bred Life Science (Китай).

Материалы и методы исследований. Исследование было проведено в научно-образовательной лаборатории репродуктивных и генетических биотехнологий на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

Было проведено взятие и исследование качества спермы быков голштинской породы (n=2, 5 повторных исследований). При этом учитывали такие критерии как морфология, подвижность (согласно стандартным методикам и протоколам [1]). Отбор проб был произведен с помощью искусственной вагины модели IMV (Франция) согласно ГОСТ 32222–2013 [2].

Набор Bred Life Science (Китай) включает в себя: агарозную подложку для клеток (ACS); предметные стекла с суперпокрытием (SCS); пробирки Эппендорфа (ETP); раствор 1 (DA) - денатурирующий агент, один флакон-капельница; раствор 2 (LS) – лизирующий раствор; раствор 3 (SSA)-раствор А для окрашивания эозином; раствор 4 (SSB) – раствор В для окрашивания тиразином; плавающая опора.

Визуализация проводилась с применением светлопольной микроскопии (увеличение с использованием объектива 100 x10, иммерсионное масло) с последующим ручным методом подсчета количества сперматозоидов.

Результаты исследований. При проведении оценки качества спермы быков-производителей были получены следующие результаты: объем – 5 мл, концентрация – 2×10^9 , морфология: нормальные сперматозоиды – $62,80 \pm 7,80$ %, патология: дефекты головок сперматозоидов – $3,00 \pm 0,71$ %, дефекты шейки сперматозоидов – $8,40 \pm 3,07$ %, дефекты хвоста сперматозоидов – $25,40 \pm 5,18$ %, подвижность: прогрессивные – $83,73 \pm 1,35$ %, непрогрессивные – $9,26 \pm 1,90$ %, неподвижные – $7,01 \pm 2,52$ %.

При проведении оценки фрагментации ДНК сперматозоидов было выявлено наличие массивных разрывов ДНК (69 %).

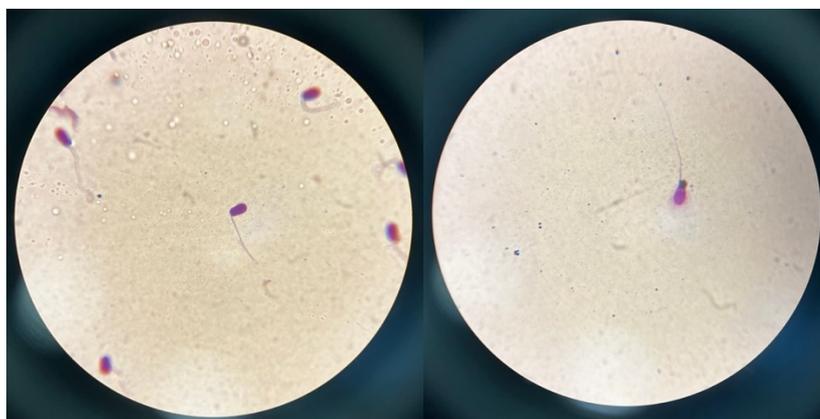


Рисунок 1 – Минимальный ореол свечения. Рисунок 2 – Полное отсутствие свечения.

При этом наблюдали минимальный ореол свечения (гало дисперсии) или полное его отсутствие (рисунок 1 и рисунок 2).

Заключение. Полученные данные определяют важность проведения оценки степени фрагментации ДНК сперматозоидов быков-производителей. Кроме того, целесообразным является включение данного метода в протокол спермограммы с целью установления репродуктивного потенциала производителей.

Литература. 1. Баженова, Н. Б. Оценка качественных показателей спермы животных: учебно-методическое пособие / Н. Б. Баженова, К. В. Племяшов, Е. А. Корочкина. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2023. – 25 с. 2. ГОСТ 32222–2013. Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб. – Введен 2015-01-27. – Москва : Стандартинформ, 2018 – 10 с. 3. Agarwal, A. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility / A. Agarwal, T. M. Said // *Hum Reprod Update*. – 2003. - № 9 (4). – P. 331-45. DOI: 10.1093/humupd/dmg027. 4. Reactive oxygen species and cryopreservation promote DNA fragmentation in equine spermatozoa. / J. Baumber, B. A. Ball, J. J. Linfor, S. A. Meyers // *J. Androl.* – 2003. - № 24. – P. 621–628. DOI: 10.1002/j.1939-4640.2003.tb02714.x. 5. Candé, C. Apoptosis-inducing factor (AIF): caspase-independent after all. / C. Candé C, N. Vahsen, C. Garrido C. // *Cel.l Death. Differen.* – 2004. - № 11. – P. 591-595. DOI: 10.1038/sj.cdd.4401400.

УДК 636.2.034 : 615.27

ДИНАМИКА ЖИВОЙ МАССЫ ЦЫПЛЯТ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЭРГОТРОПИКОВ КУРАМ РОДИТЕЛЬСКОГО СТАДА

Щербинина М.А., Клетикова Л.В., Якименко Н.Н.

ФГБОУ ВО «Верхневолжский государственный агробиотехнологический университет», г. Иваново, Российская Федерация

*Применение курам родительского стада препаратов, обладающих выраженным биологическим эффектом, оказывает влияние на цыплят, полученных из яиц от этих кур. Курам контрольной группы выпоили «Витол СН», 1 опытной – «Антистресс В-К-холин», 2 опытной – «Интромин Орал» в течение 5 дней в рекомендуемых дозах. Полученные яйца инкубировали. После вывода наблюдали за динамикой роста цыплят. Абсолютный прирост живой массы за период выращивания был больше у цыплят 1 опытной группы, средняя живая масса составила 2902,00 г. Минимальный отход и выбраковка цыплят отмечены во 2 опытной группе. Однородность стада у 40-суточных цыплят в контрольной группе – 33,30 %, в 1 опытной – 96,70 %, во 2 опытной группе – 76,70 %. **Ключевые слова:** цыплята-бройлеры, куры родительского стада, препараты-эрготропики, семя применения, динамика массы, однородность, сохранность.*