

12 Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины АПК страны»



# **Особенности сперматогенеза и качества спермы животных в связи с генетическими ассоциациями**

**Никиткина Е.В., К.б.н., в.н.с.,  
Богданова С.С., м.н.с.  
ВНИИГРЖ**

# Качество спермы

```
graph TD; A[Качество спермы] --> B[Может быть разное у одного самца]; A --> C[Может различаться между самцами]; B --> B1[Кормление и содержание]; B --> B2[Время года]; B --> B3[Болезнь]; B --> B4[Другие причины]; C --> C1[Генетика ???];
```

*Может быть разное у одного самца*

*Кормление и содержание*

*Время года*

*Болезнь*

*Другие причины*

*Может различаться между самцами*

*Генетика ???*

# CASA (компьютерный анализ спермы)



Рис. 1 пример casa комплектации



Рис.2 камера Маклера

Таблица 1

Таблица 1. Разброс показателей качества нативной спермы животных

Показатели качества спермы	Жеребцы	Петухи	Быки
Общая подвижность, %	0,5 - 92,5	15 - 95	25 - 90
Прогрессивная подвижность, %	0,5 - 80,8	5 - 90,3	15 - 89,2
Нарушения акросом, %	4,6 - 38,8	-	13,6 - 39,2
Нарушения в области хвоста и шейки, %	1,8 - 45,2	-	1,2 - 14,1
Нарушения мембран, %	20 - 50	29,1- 73,8	8,3- 18,2
Фрагментация ДНК, %	4,8 - 56,5	-	-
Стимуляция дыхания 2,4-ДФ	1,0 - 2,9	1,4 - 3,3	1,1 - 3,0

# Процесс организации учета морфологии и проницаемости мембран сперматозоидов



Рис.3 Подготовка образца спермы



Рис.4 Адаптированный цитометр и цито-препараты

# Окрашивание



Рис.5 Этапы окрашивания мазка



Рис.6 Морфология сперматозоидов

ДНК 96 жеребцов были прогенотипированы с помощью микрочипа Affymetrix Equine HD array

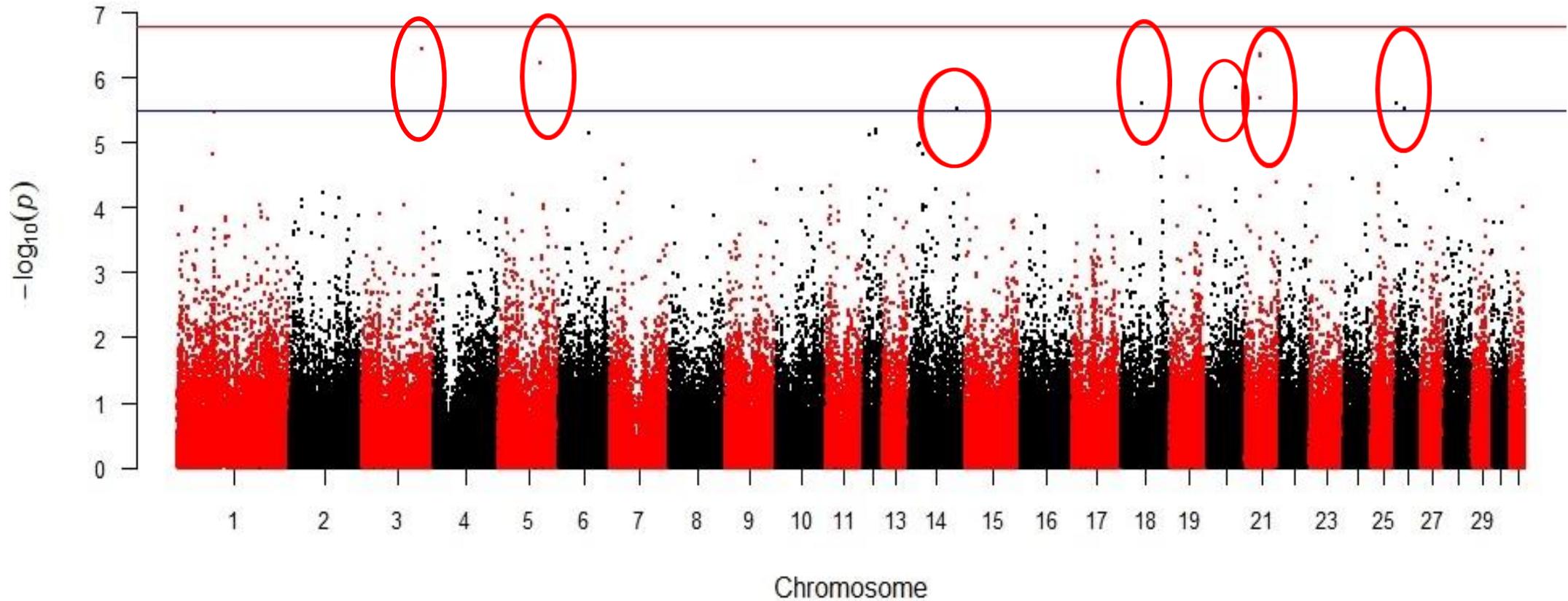
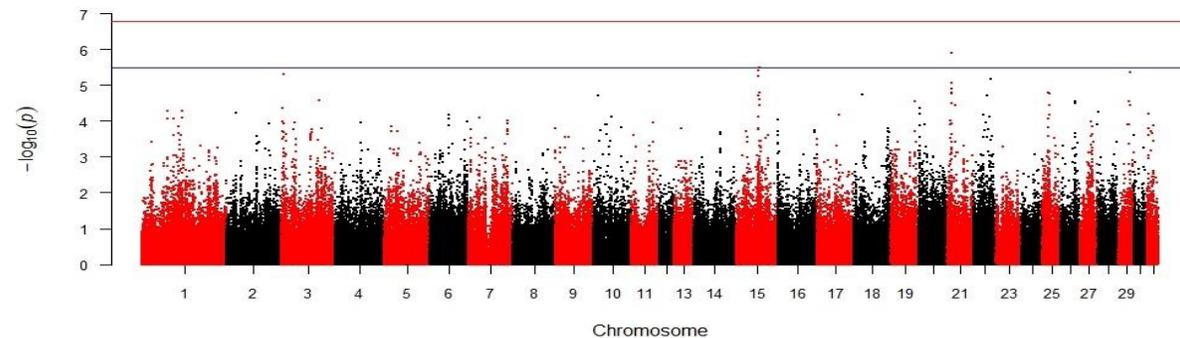


Рисунок 1. Манхэттенский график, объем спермы жеребцов

Таблица 2. Однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные с объемом эякулята.

SNP	ECA	SNP-Position, BP	P-value	Motif	MAF	Location	Candidate genes
rs68653574	1	61504816	3.47E-06	G/A	(G) 0.434	intron variant	CFAP70
rs1136439137	3	102464948	3.74E-07	A/C	(C) 0.066	intergenic variant	GBA3
rs1136002539	5	66713628	5.96E-07	A/C	(C) 0.098	intron variant	ENSECAG00000029394
rs1140713201	6	51254530	7.10E-06	T/C	(C) 0.131	intergenic variant	SOX5 BCAT1
rs1148936458	12	22186622	6.46E-06	T/C	(C) 0.052	intergenic variant	INCENP
rs1140833161	12	12019674	7.82E-06	T/C	(C) 0.197	synonymous variant	MTCH2
rs1138079567	12	27038414	7.09E-06	G/A	(A) 0.111	5 prime UTR variant	ENSECAG00000030790
rs1143966323	14	80457735	3.07E-06	G/A	(A) 0.098	intergenic variant	RASA1, EDIL3, HAPLN1
rs393801479	18	34222741	2.45E-06	C/T	(C) 0.085	intron variant	STAM2
rs1138016965	20	49320962	1.40E-06	G/T	(T) 0.157	intergenic variant	TFAP2D, TFAP2B, PKHD1, IL17A, IL17F, MCM3
rs1144502606	20	49320912	1.40E-06	T/C	(C) 0.157	intergenic variant	TFAP2D, TFAP2B, PKHD1, IL17A, IL17F, MCM3
rs1140720551	21	26929291	4.45E-07	A/G	(G) 0.190	intergenic varian	DAB2
rs69224996	21	26750556	4.63E-07	A/G	(G) 0.105	intron variant	ENSECAG00000040491
rs396864707	21	26725393	2.13E-06	G/A	(A) 0.203	intron variant	ENSECAG00000038439
rs395643783	21	26428669	2.12E-06	G/A	(A) 0.059	intron variant	ENSECAG00000033113
rs397230196	26	2625580	2.55E-06	C/T	(T) 0.042	intron variant	ENSECAG00000004527
rs1141953361	29	17942647	9.46E-06	A/G	(G) 0.164	intergenic variant	MALRD1



**Таблица 3. Однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные с концентрацией сперматозоидов жеребцов**

SNP	EC A	SNP-Position, BP	P-value	Motif	MAF	Location	Candidate genes
rs1136148618	3	6032165	4.85E-06	G/A	(A) 0.053	intergenic variant	<i>CHD9</i> <i>ZNF423</i>
rs1144312470	3	6120968	4.85E-06	T/C	(C) 0.053	intergenic variant	<i>CHD9</i> <i>ZNF423</i>
rs1148154272	15	50033953	3.79E-06	C/T	(T) 0.133	intron variant	<i>NRXN1</i>
rs1147919841	15	51923564	3.17E-06	C/T	(C) 0.126	intergenic variant	<i>FOXN2</i> <i>FBXO11</i>
rs1136353842	15	50836670	5.62E-06	G/A	(A) 0.146	intron variant	<i>ENSECAG00000040916</i> <i>FSHR</i>
rs1143444054	21	8489440	8.42E-06	G/T	(T) 0.1	intron variant	<i>SGTB</i>
AX-104845540	21	9495004	1.27E-06	G/T	(T) 0.213	intergenic variant	<i>SHISAL2B</i> <i>RGS7BP</i>
rs1145528204	22	38871609	6.90E-06	T/G	(G) 0.053	intergenic variant	<i>B4GALT5</i> <i>SLC9A8</i>
rs1149755832	29	28159185	4.28E-06	A/G	(G) 0.06	intergenic variant	<i>SFMBT2</i> <i>PRKCQ</i>

Таблица 4. Распределение показателей качества спермы по генотипам *GRM8* у жеребцов

Ген	Генотип	Объем, мл	Концентрация ×10 <sup>6</sup> /мл	Общее количество клеток (×10 <sup>8</sup> )	Прогрессивная подвижность (%)
<i>GRM8 (A&gt;G)</i> <i>rs394524550</i>	AA	45,7 ± 5.43	190,6 ± 18,2	80,5 ± 11.55	49,6 ± 4,68 <sup>a</sup>
	AG	48,5 ± 7.23	254,4 ± 38,82	124,9 ± 24,96	64,7 ± 9,76 <sup>b</sup>
	GG	48,0 ± 15,31	213,7 ± 50,52	97,8 ± 36,15	33,7 ± 9,06 <sup>c</sup>
<i>GRM8 (A&gt;T)</i> <i>rs1138419111</i>	AA	44,2 ± 5,71	202,7 ± 19,64	86,2 ± 10,89	50,5 ± 3,99
	TT	50,0 ± 7,89	250,0 ± 39,65	125,0 ± 46,00	75,0 ± 23,76
	TA	47,7 ± 19,64	205,2 ± 44,42	77,4 ± 26,00	33,5 ± 10,72
<i>GRM8 (G&gt;A)</i> <i>rs1147388106</i>	AA	18,0 ± 33,63 <sup>a</sup>	169,0 ± 34,67	30,4 ± 34,96 <sup>a</sup>	45,0 ± 17,89
	AG	32,5 ± 4,91 <sup>b</sup>	234,3 ± 32,32	80,5 ± 17,80 <sup>b</sup>	57,5 ± 8,81
	GG	55,9 ± 26,53 <sup>c</sup>	189,2 ± 19,24	94,9 ± 11,13 <sup>b</sup>	42,7 ± 5,45
<i>GRM (T&gt;C)</i> <i>rs395286150</i>	CC	49,7 ± 7,71	189,5 ± 20,77 <sup>a</sup>	86,7 ± 12,03 <sup>a</sup>	48,4 ± 5,51 <sup>a</sup>
	CT	40,0 ± 10,0	317,0 ± 47,00 <sup>b</sup>	122,1 ± 12,9 <sup>b</sup>	65,5 ± 14,51 <sup>b</sup>
	TT	45,3 ± 9,19	209,6 ± 22,01 <sup>c</sup>	90,1 ± 23,4 <sup>c</sup>	48,7 ± 8,34 <sup>a</sup>

Примечания: <sup>a, b, c</sup>  $p < 0,05$ ; <sup>a, b</sup>  $p < 0,05$

Таблица 5. Распределение морфологических показателей качества спермы и сопряженности дыхания и фосфорилирования в сперме по генотипам *IMMP1L* у жеребцов

Ген	Генотип	Нормальные клетки, %	Повреждения акросом, %	Повреждения в области хвоста и шейки, %	Повреждения мембран, %	Стимуляция дыхания 2,4 ДНФ, раз
<i>IMMP1L</i>	CC	77,5 ± 2,03	5,5 ± 0,76	17,1 ± 4,21	45,3 ± 3,21	2,0 ± 0,35
	CG	74,5 ± 2,18	6,5 ± 0,53	16,0 ± 8,23	48,4 ± 5,42	1,9 ± 0,44
	GG	78,0 ± 2,89	5,0 ± 0,33	14,7 ± 4,39	44,1 ± 4,42	1,9 ± 0,23
<i>IMMP1L (T&gt;A)</i> <i>rs782871191</i>	TT	78,5 ± 2,62	4,8 ± 0,56	17,3 ± 5,34	46,4 ± 4,45	2,1 ± 0,27
	TA	75,6 ± 3,82	6,0 ± 0,58	15,6 ± 6,72	46,7 ± 3,67	2,0 ± 0,19
<i>IMMP1L (G&gt;C)</i> <i>rs68817978</i>	CC	78,2 ± 2,71	5,2 ± 0,25	15,5 ± 18,32	42,4 ± 2,78 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,16 <sup>a</sup>
	GC	75,3 ± 3,63	6,4 ± 0,45	16,4 ± 14,49	49,9 ± 4,32 <sup>b</sup>	1,9 ± 0,08 <sup>b</sup>
	GG	77,8 ± 2,34	5,7 ± 0,39	19,4 ± 14,33	51,8 ± 3,65 <sup>c</sup>	1,9 ± 0,09 <sup>b</sup>

Примечания: <sup>a, b, c</sup>  $p < 0,05$ ; <sup>a, b</sup>  $p < 0,05$

**Таблица 2. Показатели качества спермы быков в зависимости от генотипов по FSHR, INHA, TNP2 и SPEF2 генам**

Ген	Генотип	Дуплет (мл)	Концентрация ( $\times 10^8$ /мл)	Общее количество клеток ( $\times 10^8$ )	Прогрессивная подвижность (%)
<i>FSHR</i>	AA (11)	17.8 $\pm$ 7.52 <sup>a</sup>	1.40 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	25.7 $\pm$ 11.56 <sup>a</sup>	86.4 $\pm$ 5.04
	AT (16)	16.3 $\pm$ 8.30	1.45 $\pm$ 0.33	25.3 $\pm$ 15.09	84.7 $\pm$ 4.99
	TT (4)	11.75 $\pm$ 7.85 <sup>b</sup>	1.25 $\pm$ 0.34 <sup>b</sup>	15.3 $\pm$ 11.79 <sup>b</sup>	82.5 $\pm$ 5.00
<i>INHA</i>	AA (26)	16.00 $\pm$ 8.31	1.37 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	22.90 $\pm$ 13.48	84.60 $\pm$ 4.98
	AG (6)	17.30 $\pm$ 6.71	1.64 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>	29.30 $\pm$ 13.99	86.70 $\pm$ 5.16
<i>TNP2</i>	CC (3)	13.70 $\pm$ 10.78	1.30 $\pm$ 0.43	19.40 $\pm$ 17.63	83.30 $\pm$ 5.74
	CT (5)	14.40 $\pm$ 10.28	1.18 $\pm$ 0.39	19.70 $\pm$ 16.99	86.00 $\pm$ 5.47
	TT (23)	17.04 $\pm$ 7.33	1.47 $\pm$ 0.24	25.80 $\pm$ 12.66	85.00 $\pm$ 5.00
<i>SPEF2</i>	GG (9)	15.30 $\pm$ 7.62	1.41 $\pm$ 0.27	22.90 $\pm$ 13.49	84.40 $\pm$ 5.27
	GT (16)	17.30 $\pm$ 7.74	1.43 $\pm$ 0.22	25.40 $\pm$ 12.20	85.30 $\pm$ 4.99
	TT (6)	15.00 $\pm$ 9.90	1.33 $\pm$ 0.52	22.80 $\pm$ 18.93	85.00 $\pm$ 5.47

ab  $P < 0.05$

Ассоциации, выявленные в нашем исследовании, являются многообещающими кандидатами для дальнейшего выявления биологических механизмов, лежащих в основе качества спермы и ее криорезистентности



**Исследования выполняются при финансовой  
поддержке**

**Министерства образования и науки проект №  
121052600354-7**





*Спасибо*

