

Abstrakt

Intracytoplasmatická injekce spermie, neboli ICSI, je metoda běžně používaná v centrech asistované reprodukce a zároveň je efektivním nástrojem pro výzkum oplození. Metoda interspecifické ICSI je vhodná pro produkci zygot, které vznikají spojením gamet odlišného, vzdáleně nepříbuzného druhu. Dokáže obejít přirozené mezidruhové bariéry a vytvořit tzv. interspecifické zygoty. Toho se dá využít při hodnocení vlastností gamet ohrožených druhů živočichů. V této práci byla metoda použita pro hodnocení kvality uchovávaného spermatu kozlů z genetického zdroje kozy bílé krátkosrsté.

Cílem práce bylo vyhodnotit vliv kryoprezervace na kvalitu spermatu kozlů, které bylo mražené třemi rozdílnými způsoby na dvou různých chovatelských stanicích.

Jako kontrolní skupina sloužilo čerstvě odebrané sperma. Do maturovaných myších oocytů byly injikovány hlavičky xenogenních kozlích spermií. Injikované oocyty se nechaly vyvíjet do stadia zygoty, ve kterých se vytvořilo jak samičí (myší), tak samčí (koslí) prvojádře. V samčím prvojádře se hodnotilo DNA poškození pomocí imunofluorescenčního barvení protilátkou proti γ H2AX, což je marker DNA zlomů.

Výsledky získané měřením hladiny intenzity fluorescence γ H2AX v paternálních prvojádrech ukazují, že se sledované hodnoty mezi jednotlivými skupinami liší. Nejnižší hodnoty intenzity fluorescence, a tedy nejmenší poškození DNA, byly prokázány u čerstvého spermatu ($11,93 \pm 8,06$). Rozdílnost byla prokázána i mezi skupinami mraženého spermatu. Byl potvrzen vliv různých metod odběru a zmrazování spermatu a vliv složení zamrazovacího média. Nejvyšší hodnoty intenzity fluorescence byly zjištěny u zamrazovacího média s přídavkem vaječného žloutku ($39,23 \pm 8,06$).

Tato metoda hodnocení kvality genetického materiálu zvířat zařazených do genetických zdrojů a do budoucna i ohrožených druhů zvířat je relativně jednoduchá a levná metoda, která může nahradit předchozí techniky hodnocení kvality spermií. Její výhodou je možnost nahrazení těžko dostupných oocytů ohrožených druhů snadno dostupnými myšími oocyty.

Klíčová slova

ICSI, biodiverzita, genové zdroje, spermie