

Мастер класс в рамках Всероссийской школы-конференции «Клеточные и геномные технологии для совершенствования сельскохозяйственных животных»

Криоконсервация спермы петухов

м. н. с. лаборатории генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц Курочкин А.А.

Оборудование и материалы для криоконсервации спермы петухов

- Пенициллиновые флаконы
- Градуированные пипетки для измерения объема спермы и добавления соответствующего количества разбавителя
- Автоматические пипетки
- Микроскоп с подогревательным столиком
- Спектрофотометр
- Капиллярная пипетка
- Оттаиватель (нагретая металлическая пластина, разработка ВНИИГРЖ, 1989)



Взятие спермы и пробоподготовка образцов

- Сперму собирают с помощью метода абдоминального массажа, (Burrows and Quinn), в пенициллиновые флаконы
- Эякуляты разбавляют разбавителем ЛКС-1(авторское свидетельство № 1130339), в соотношении 1:1
- Эквилибрация семени производится в холодильной камере при температуре 5 °C, в течение 40 мин
- В качестве криопротектора используется DMA (диметилацетамид). Он добавляется после эквилибрации в количестве, соответствующим конечной концентрации 6%.
- После добавления криопротектора образцы семени помещают в холодильную камеру на 1 мин, для выравнивания температуры.



Состав ЛКС-1

- Глутамат натрия 1,92 г.
- Фруктоза 0,8 г.
- Ацетат калия 0,5 г.
- Поливинилпирролидон 0,3 г.
- Протамина сульфат 0,032 г.
- Вода дистиллированная 100 мл.

Криоконсервация

Криоконсервация производится в гранулах, путем прямого накапывания семени в жидкий азот по методике Нарубиной Л. Е., Курбатова А. Д. и др, данная методика позволяет получить высокие показатели оплодотворяемости яиц (85,6 %), не требует дорогостоящего оборудования и легко воспроизводима. После добавления криопротектора, семя набирается в капиллярную пипетку и накапывается в жидкий азот с расстояния 5 см до азотного зеркала. Скорость раскапывания составляет примерно 1,4 гранулы в секунду. Размораживание гранул производится на нагретой металлической пластине при t 60°C (разработка ВНИИГРЖ, 1989).



Хранение образцов спермы в криохранилище







Спасибо за внимание!